

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Dissertação

**Impacto do cultivo de azevém tetraploide sobre azevém
diploide resistente a herbicidas**

Maicon Fernando Schmitz

Pelotas, 2018

MAICON FERNANDO SCHMITZ

Impacto do cultivo de azevém tetraploide sobre azevém diploide resistente a herbicidas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fitossanidade (área do conhecimento: Herbologia).

Orientador: Dr. Leandro Vargas

Coorientador: Dr. Dirceu Agostinetto

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S355i Schmitz, Maicon Fernando

Impacto do cultivo de azevém tetraploide sobre azevém diploide resistente a herbicidas / Maicon Fernando Schmitz ; Leandro Vargas, orientador ; Dirceu Agostinetto, coorientador. — Pelotas, 2018.

112 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Lolium multiflorum. 2. Ploidia. 3. Controle cultural. 4. Manejo da resistência. I. Vargas, Leandro, orient. II. Agostinetto, Dirceu, coorient. III. Título.

CDD : 633.2

Banca examinadora:

Eng. Agr. Dr. André Andres

Eng. Agr. Dr. Leandro Galon

Eng. Agr. Dr. Dirceu Agostinetto
(Coorientador)

Eng. Agr. Dr. Leandro Vargas
(Orientador)

Aos meus pais, Celso e Odênia.
Aos meus irmãos, Moisés e Micheli.
A minha namorada Bruna.
Aos meus padrinhos.
Aos meus amigos (as).

OFEREÇO E DEDICO

"Lute com determinação, abrace a vida com paixão, perca com classe e vença com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito bela para ser insignificante".

Charles Chaplin

Agradecimentos

À Deus, pela vida e por ter guiado meus caminhos e minhas decisões para que eu obtivesse sucesso em mais essa etapa da minha vida.

À minha família, pelo incentivo, apoio, compreensão e carinho, sem a qual não teria realizado esta etapa em minha vida.

À Universidade Federal da Fronteira Sul, que me proporcionou formação educacional e pessoal, em especial aos professores Dr. Leandro Galon e Dr. Gismael Francisco Perin pelos ensinamentos que levarei sempre comigo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade pela oportunidade de realização do curso e aos professores que contribuíram para minha formação profissional e pessoal.

Ao professor Dr. Leandro Vargas pela orientação, apoio em todos os momentos, pelo conhecimento compartilhado, dedicação, confiança, convivência, pela amizade e estímulo no dia-a-dia.

Ao professor Dr. Dirceu Agostinetti por toda ajuda e orientação, a todos os ensinamentos, conselhos, incentivo, amizade e confiança proporcionados.

Às professoras Dr. Beatriz Helena Gomes Rocha e Dr. Vera Lúcia Bobrowski por disponibilizar do seu tempo para auxílio na contagem cromossômica.

Aos professores Dr. Luis Antonio de Avila e Dr. Edinaldo Rabaioli Camargo pela amizade, convívio e ensinamentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de Mestrado.

À Universidade Federal de Pelotas, em especial ao Centro de Estudos em Herbologia e, a Embrapa Trigo pela disponibilização das suas instalações para a realização dos experimentos.

Aos funcionários da Embrapa Trigo, em especial Egidio Sbrissa e Everson S. Flores, pela amizade, paciência durante o estágio de graduação e pelo auxílio na condução dos trabalhos do mestrado.

Aos meus colegas e amigos da pós-graduação: Alcimar Mazon, Andrés Monge Vargas, Andressa Pitol, Bruno Moncks da Silva, Claudia de Oliveira, Cristiano Piasecki, Daiane Benemann, Daniela Tessaro, Edna Souza, Francisco Goulart, Jéssica Rodrigues Garcia, Joanei Cechin, Jonas Rodrigo Hencles, Juliano Gazola, Laís Tessari Perboni, Nixon Westendorff, Queli Ruchel, Renan Ricardo Zandoná, pela amizade, incentivo e auxílio na execução dos experimentos.

Aos bolsistas e estagiários, do Centro de Estudos em Herbologia (CEHERB) Jonas Mathias Schmitd, Jonathan Torchelsen, José Vitor Silva da Silva, Roberto Avila Neto, Silvio Thiago de Oliveira Raphaelli, João Goebel, Kevin Kickhofel Weisshahn, pela amizade, incentivo, momentos de convívio e auxílio na execução dos experimentos.

A todos, o meu muito obrigado!

Resumo

SCHMITZ, Maicon Fernando. **Impacto do cultivo de azevém tetraploide sobre azevém diploide resistente a herbicidas** 2018. 112f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A competição intergenotípica de azevém tetraploide com a população natural diploide pode ser ferramenta para reduzir a frequência de indivíduos resistentes numa área. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a possibilidade e os impactos do uso de genótipos de azevém tetraploide em substituição ao diploide, nos sistemas lavoura-pecuária do Rio Grande do Sul. Para atender os objetivos do deste trabalho, foram realizados quatro estudos, visando: 1) avaliar o valor adaptativo, ciclo e componentes de produtividade entre genótipos de azevém diploide e tetraploide; 2) quantificar o efeito de doses de herbicidas pós-emergentes sobre a seletividade e herbicidas em diferentes estádios de aplicação sob o controle de azevém tetraploide; 3) determinar a longevidade de sementes dos genótipos de azevém diploide e tetraploide, expostas a diferentes profundidades e tempo de enterrio; 4) mensurar a possibilidade de cruzamento entre genótipos diploides e tetraploides de azevém, determinando a qualidade fisiológica e viabilidade das sementes oriundas dos cruzamentos, percentagem de sobrevivência e herança da resistência ao glyphosate, bem como, o nível de ploidia das progênies. Os resultados demonstraram que, o azevém tetraploide apresenta ciclo mais longo que o diploide, devido principalmente ao maior período de afilhamento. O número de filhos, área foliar, massa seca de raiz e número de sementes foram superiores para o azevém tetraploide e, este apresentou habilidade competitiva superior ao diploide. Os herbicidas bentazon, 2,4-D, saflufenacil e carfentrazone-ethyl foram seletivos ao azevém tetraploide independente da dose empregada. Glyphosate, diuron + paraquat, clethodim e haloxyfop apresentam controle satisfatório, de azevém tetraploide. Glufosinate apresentou controle insatisfatório nos estádios de afilhamento e alongamento, no entanto adequado quanto pulverizado no estádio de florescimento. Sementes de azevém diploide apresentaram dormência primária, impedindo a germinação imediata após deposição no solo, enquanto sementes tetraploides não demonstraram dormência, permanecendo no banco de sementes em estado quiescente. Ambos os genótipos apresentaram sementes potencialmente emergentes no quarto mês após o enterrio, quando as condições ambientais (temperatura, radiação e umidade) são adequadas para o desenvolvimento da espécie. Independente do genótipo testado e do tempo, quanto maior a

profundidade de enterrio das sementes, maior a longevidade no banco de sementes do solo. A progênie oriunda do cruzamento diploide resistente ao glyphosate♀ x tetraploide suscetível♂ apresentou problemas de germinação, sendo detectada apenas uma planta triploide das 22 avaliadas. Já, a progênie oriunda do cruzamento diploide resistente ao glyphosate♂ x tetraploide suscetível♀, não apresentou problemas de germinação, porém 46% das plantas morreram logo após a fase de plântula, sendo identificadas plântulas triploides (10%) e pentaploides (25%) nesse cruzamento. Não foram identificadas plantas resistentes ao glyphosate na progênie diploide resistente ao glyphosate♂ x tetraploide suscetível♀, já na progênie diploide resistente ao glyphosate♀ x tetraploide suscetível♂, apresentou redução de 47% de plantas resistentes ao glyphosate, em comparação a fecundação cruzada da progênie diploide resistente ao glyphosate.

Palavras-chave: *Lolium multiflorum*; ploidia; controle cultural; manejo da resistência

Abstract

SCHMITZ, Maicon Fernando. **Impact of tetraploid ryegrass on diploid ryegrass herbicide resistant**. 2018. 112p. Master of Science - Graduate Program in Plant Protection. Federal University of Pelotas, Pelotas.

Competition between the tetraploid with natural population of the diploid ryegrass may be a tool to reduce resistant plants in the cultivated rangeland. The objective of this work was to evaluate the opportunity and the impacts of the use of tetraploid ryegrass genotypes in substitution to the diploid, in the crop-livestock systems of Rio Grande do Sul. To meet the objectives of present work, were done four studies, aiming: 1) evaluate the fitness cost, phenological development, yield components, and competitive ability, between diploid and tetraploid ryegrasses; 2) quantify the effect of rates of post-emergence herbicides on selectivity, and application of herbicides in different phenological development under the control of tetraploid ryegrass; 3) determinate the seeds longevity of diploid and tetraploid ryegrasses buried in different depths and periods; 4) measure the crossing between diploid and tetraploid ryegrasses to evaluate the physiological quality and viability of the seeds from the crossing, percentage of survival and inheritance of glyphosate resistance, as well as the level of ploidy from progenies. The results showed that the tetraploid ryegrass have a longer cycle than the diploid, due to the longer tillering period. The tiller number, leaf area, root dry mass and the number of seeds were higher to the tetraploid ryegrass, that also had a higher competitive ability than the diploid. The herbicides bentazon, 2,4-D, saflufenacil and carfentrazone-ethyl were selective to the tetraploid ryegrass regardless of the rate used. Glyphosate, diuron + paraquat, clethodim and haloxyfop showed satisfactory control to tetraploid ryegrass. Glufosinate had unsatisfactory control in tillering and stretching stages, however was good when was sprayed in flowering stage. Diploid ryegrass seeds got primary dormancy, avoiding the germination immediately after buried, while tetraploid seeds showed no dormancy, remaining in the seed bank in a quiescent stage. Both genotypes have potentially emergent seeds in the fourth month after burial, when the environmental conditions (temperature, radiation and moisture) are adequate for the ryegrass development. Whatever of the genotype tested and the period after burial, seeds buried at greater depth showed superior longevity in the soil seed bank. Progeny from the susceptible tetraploid♂ x glyphosate resistant diploid♀ crossing exhibited germination problems, with only one triploid plant being detected from the 22 plants evaluated. However, the progeny from the crossing between glyphosate resistant diploid♂ x tetraploid susceptible♀, did not show germination problems, but 46% of the plants died quickly after the seedling stage, with triploid (10%) and

pentaploid (25%) seedlings identified. No glyphosate resistant plants were detected in susceptible tetraploid♀ x resistant diploid♂ progeny, however in susceptible tetraploid♂ x diploid resistant♀ progeny, was observed a reduction of 47% of glyphosate resistant plants compared to cross-fertilization progeny resistant to glyphosate.

Key-words: *Lolium multiflorum*; ploidy; cultural control; resistance management

Lista de Figuras

- Figura 1- Duração em dias dos estágios fenológicos de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN®) com base na escala fenológica adaptada de Bleiholder et al. (1991). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016.32
- Figura 2- Número de afilhos (NA) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN®) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016.34
- Figura 3- Estatura (EP) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN®) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016.35
- Figura 4- Massa seca da parte aérea (MSPA) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN®) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016.36
- Figura 5- Massa seca de raiz (MSR) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN®) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016.37
- Figura 6- Área foliar (AF) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN®) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016.38
- Figura 7- Índice de área foliar (IAF) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN®) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016.38
- Figura 8- Razão de área foliar (AF) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN®) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016.39

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 9- | Taxa de crescimento relativo (TCA) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN®) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016..... | 40 |
| Figura 10- | Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para afilhamento (NA) e estatura (EP) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN®). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016..... | 43 |
| Figura 11- | Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para área foliar (AF) e massa seca da parte aérea (MSPA) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN®). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016..... | 44 |
| Figura 12- | Sementes remanescentes (%) de azevém diploide, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017. ... | 68 |
| Figura 13- | Germinação (%) de azevém diploide aos sete dias após a semeadura do teste de germinação, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 70 |
| Figura 14- | Germinação (%) de azevém diploide aos 14 dias após a semeadura do teste de germinação, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 71 |
| Figura 15- | Plântulas anormais (%) de azevém diploide, em função do tempo de enterrio. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 72 |
| Figura 16- | Mortalidade (%) de sementes de azevém diploide, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017. ... | 73 |
| Figura 17- | Dormência (%) de azevém diploide, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 74 |
| Figura 18- | Representação gráfica da percentagem de germinação, plântulas anormais, sementes: mortas, dormentes e predadas ou deterioradas; de azevém diploide (<i>Lolium multiflorum</i>), em função do tempo (0 a 8 meses) e profundidade de enterrio (0,0 cm (A); 2,5 cm (B) e 5,0 cm (C)). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 76 |
| Figura 19- | Sementes remanescentes (%) de azevém tetraploide, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 77 |
| Figura 20- | Germinação (%) de azevém tetraploide aos sete dias após a semeadura do teste de germinação, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 78 |

| | | |
|------------|---|----|
| Figura 21- | Germinação (%) de azevém tetraploide aos 14 dias após a semeadura do teste de germinação, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 79 |
| Figura 22- | Plântulas anormais (%) de azevém tetraploide, em função do tempo de enterrio. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 80 |
| Figura 23- | Mortalidade (%) de sementes de azevém tetraploide, em função do tempo de enterrio. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 81 |
| Figura 24- | Dormência (%) de azevém tetraploide, em função do tempo de enterrio. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 82 |
| Figura 25- | Representação gráfica da percentagem de germinação, plântulas anormais, sementes: mortas, dormentes e predadas ou deterioradas; de azevém tetraploide (<i>Lolium multiflorum</i>), em função do tempo (0 a 8 meses) e profundidade de enterrio (0,0 cm (A); 2,5 cm (B) e 5,0 cm (C)). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 84 |
| Figura 26- | Sementes de azevém oriunda do cruzamento DRR♀ x TSC♂, com embrião ausente (A) e presente (B) após a exposição a sal 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio a 1,0 % por 24 horas, FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017 | 93 |
| Figura 27- | Cromossomos de azevém diploide 2n (A), triploide 3n (B), tetraploide 4n (C) e pentaploide 5n (D) oriundos do cruzamento entre plantas diploides e tetraploides, apresentando o genótipo diploide resistência ao herbicida glyphosate, FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 97 |

Lista de Tabelas

| | | |
|-----------|---|----|
| Tabela 1- | Componentes de produtividade do azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN®) após maturação fisiológica. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016..... | 41 |
| Tabela 2- | Diferenças relativas de produtividade (PR) e produtividade relativa total (PRT), para as variáveis número de afilhos (NA), estatura (EP), área foliar (AF) e massa seca da parte aérea (MSPA), nas proporções de plantas de azevém diploide (comum) e azevém tetraploide (INIA TITAN®). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016..... | 45 |
| Tabela 3- | Respostas para número de afilhos (NA), estatura (EP), área foliar (AF) e matéria seca da parte aérea (MSPA) de azevém diploide (comum), competindo com azevém tetraploide, c.v. INIA TITAN®, sob diferentes proporções de plantas. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016..... | 46 |
| Tabela 4- | Índices de competitividade de azevém tetraploide, c.v. INIA TITAN® competindo com azevém diploide (comum), expressos por competitividade relativa (CR), coeficientes de agrupamento relativo (K) e de competitividade (C). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016. | 47 |
| Tabela 5- | Mecanismo de ação, nome comercial, ingrediente ativo e dose dos herbicidas (g i.a. ha-1) utilizados em pós-emergência de azevém tetraploide cv. INIA Titan®. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016. .. | 52 |
| Tabela 6- | Mecanismo de ação, nome comercial, ingrediente ativo e dose dos herbicidas (g i.a. ha-1) utilizados para o controle de azevém tetraploide cv. INIA Titan® em três estádios de desenvolvimento. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017..... | 53 |

| | | |
|------------|---|----|
| Tabela 7- | Condições atmosféricas no momento da aplicação dos herbicidas nos experimentos de seletividade e controle de azevém tetraploide, cv. INIA Titan®. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016/17.. | 53 |
| Tabela 8- | Fitotoxicidade (%) apresentada pelo azevém tetraploide cv. INIA Titan®, devido à aplicação de doses e herbicidas, aos 12, 24 e 36 dias após aplicação dos tratamentos (DAT). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016..... | 55 |
| Tabela 9- | Massa seca ($t\ ha^{-1}$) do azevém tetraploide cv. INIA Titan®, aos 36 dias após aplicação dos tratamentos (DAT), devido aplicação de diferentes doses e herbicidas. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016.. | 56 |
| Tabela 10- | Controle (%) de azevém tetraploide cv. INIA Titan®, apresentado aos 10, 20 e 30 dias após aplicação dos tratamentos (DAT), em função do uso de herbicidas em diferentes estádios de desenvolvimento. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 59 |
| Tabela 11- | Massa seca ($t\ ha^{-1}$) acumulada pelo azevém tetraploide cv. INIA Titan®, aos 30 dias após aplicação dos tratamentos (DAT), devido ao uso de herbicidas em diferentes estádios de desenvolvimento. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 61 |
| Tabela 12- | Germinação aos cinco e 14 dias após a semeadura, plântulas anormais, sementes mortas, viáveis e inviáveis de cruzamentos de genótipos azevém envolvendo níveis de ploidia e resistência ao glyphosate no genótipo diploide, FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 91 |
| Tabela 13- | Sobrevivência, plantas sensíveis e resistentes (%) a glyphosate, em cruzamentos de genótipos azevém envolvendo níveis de ploidia e resistência ao glyphosate do genótipo diploide, FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017. | 94 |
| Tabela 14- | Contagem cromossômica de cruzamentos de genótipos azevém, envolvendo níveis de ploidia e resistência ao glyphosate do genótipo diploide, FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017..... | 96 |

Sumário

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 19 |
| 2. CAPÍTULO I – Custo adaptativo e habilidade competitiva entre genótipos de azevém com diferentes níveis de ploidia | 26 |
| 2.1 Introdução | 26 |
| 2.2 Material e Métodos | 27 |
| 2.3 Resultados e Discussão | 32 |
| 2.4 Conclusões | 48 |
| 3. CAPÍTULO II – Seletividade e controle de azevém tetraploide com herbicidas pós-emergentes | 49 |
| 3.1 Introdução | 49 |
| 3.2 Material e Métodos | 51 |
| 3.3 Resultados e Discussão | 54 |
| 3.4 Conclusões | 61 |
| 4. CAPÍTULO III – Longevidade de sementes de genótipos de azevém em função da profundidade e tempo de enterrio | 62 |
| 4.1 Introdução | 62 |
| 4.2 Material e Métodos | 64 |
| 4.3 Resultados e Discussão | 67 |
| 4.4 Conclusões | 85 |
| 5. CAPÍTULO IV – Qualidade fisiológica, sobrevivência, herança da resistência a glyphosate e contagem cromossômica em cruzamentos de azevém envolvendo níveis de ploidia | 86 |
| 5.1 Introdução | 86 |
| 5.2 Material e Métodos | 88 |
| 5.3 Resultados e Discussão | 91 |

| | |
|-----------------------|------------|
| 5.4 Conclusões | 98 |
| 6. CONCLUSÕES | 99 |
| 7. REFERÊNCIAS | 101 |
| Vita | 112 |

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Lolium* pertencente à família Poaceae apresenta como centro de origem o Sul da Europa, Ásia menor e Norte da África. São oito espécies que compõe este gênero, sendo *L. perenne*, *L. rigidum* e *L. multiflorum* alógamas; já, *L. persicum*, *L. remotum*, *L. loliaceum* e *L. temulentum* autógamas; enquanto, *L. canariense* apresenta modo de reprodução intermediário (POLOK, 2007). Destas espécies, *L. perenne* e *L. multiflorum* são as que apresentam ampla distribuição geográfica, em regiões de clima temperado, devido à importância econômica como plantas forrageiras e de cobertura de solo (CALLOW et al., 2000; VARGAS; MORAES; BERTO, 2007).

No Sul do Brasil (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) a espécie *L. multiflorum*, conhecido popularmente por azevém, se desenvolve de forma espontânea ou cultivada na maioria das áreas agrícolas no período de inverno e primavera, apresentando ciclo anual (GONÇALVES, 1979; CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2003; VARGAS et al., 2006). Esta espécie de origem mediterrânea chegou ao país, provavelmente por imigrantes de origem italiana, os quais iniciaram restritamente seu cultivo na encosta inferior da Serra Nordeste no Rio Grande do Sul (GONÇALVES, 1979).

Com o decorrer dos anos, a população original de plantas sofreu efeitos da seleção natural, formando população bem adaptada às condições edafoclimáticas e dispersou-se pelo Estado (GONÇALVES, 1979). A adaptabilidade está relacionada à versatilidade da planta se desenvolver sob baixas temperaturas, desde solos férteis e bem drenados, até solos úmidos, argilosos, ácidos, com baixo teor de matéria orgânica (CLARO; OSAKI, 2005). Essas características, aliadas a qualidade bromatológica, boa capacidade de rebrote, resistência ao pisoteio, facilidade de

implantação e ressemeadura natural, tornou o azevém a gramínea hibernal mais cultivada no Estado (FONTANELI; SANTOS; FONTANELI, 2012).

Fisiologicamente o azevém apresenta rota metabólica C3 e morfológicamente é caracterizado por ser uma planta herbácea, glabra, possuindo sistema radicular fasciculado e hábito de crescimento cespitoso ereto (CAUDURO et al., 2007). Os colmos são eretos, cilíndricos e sem pelos; a bainha é estriada e fechada com lígula curta e esbranquiçada; a lâmina foliar é estreita, glabra, de ápice agudo com coloração verde-brilhante; a inflorescência é uma espiga do tipo dística, apresentando duas carreiras de espiguetas multiflorais, com flósculos e lemas aristadas, contendo estames e pistilo protegidos pela palha (FONTANELI; SANTOS; FONTANELI, 2012).

A fecundação cruzada ou alogamia é a característica reprodutiva apresentada por *L. multiflorum* (VARGAS; MORAES; BERTO, 2007), proporcionando elevada heterozigose dos indivíduos, resultando em elevada variabilidade genética na população. Esta particularidade é muito importante para sobrevivência da espécie, pois plantas com esse tipo de fecundação possuem capacidade de transmitir genes de resistência á plantas adjacentes (WANG et al., 2004).

Na natureza o azevém apresenta-se como planta diploide ($2n=2x=14$ cromossomos), porém, o melhoramento genético vegetal, através da técnica de duplicação cromossômica, pela ação antimitótica da colchicina, proporcionou o desenvolvimento de plantas tetraploides ($2n=4x=28$ cromossomos) (AHLOOWALIA, 1967). Essa substância impossibilita a formação das fibras do fuso acromático durante a divisão celular, evitando que os cromossomos, posteriormente a duplicação se movimentem para os pólos da célula, conseqüentemente, após a formação da membrana nuclear a célula fica com o dobro do número de cromossomos que possuía no início do ciclo (WITTMANN; DALL ' AGNOL, 2003).

A poliploidia em azevém promove melhorias na palatabilidade e digestibilidade da forragem, devido a maior quantidade de açúcares solúveis e menor relação colmo/folhas (RAMAKRISHNAN, 2004). O azevém tetraploide também apresenta rápida produção inicial, elevada produção de massa total, aliado ao período vegetativo mais longo, quando comparado com azevém diploide. Apesar da técnica e das vantagens da duplicação cromossômica serem conhecidas desde a década de 60, somente a partir dos anos 2000 que começaram a serem importadas

e comercializadas no Brasil cultivares de azevém tetraploide, originárias principalmente do Uruguai (AHLOOWALIA, 1967; TONETTO et al., 2011).

As respostas de crescimento dos genótipos em relação à temperatura são diferenciadas, o azevém tetraploide reduz o crescimento em invernos mais rigorosos por possuir temperatura basal mais elevada (MULLER et al., 2009). Genótipos tetraploides apresentam menor produção de colmos e sementes, enquanto azevém comum apresenta resposta contrária, sendo esse resultado relacionado à capacidade de adaptação e sobrevivência da espécie no ambiente (TONETTO et al., 2011). Já as características morfogênicas, relacionadas à taxa de aparecimento de folhas, taxa de expansão, senescência de folhas, filocrono e tempo de vida das folhas são atributos que se diferenciam mais em função da cultivar utilizada, do que pelo nível de ploidia (OLIVEIRA et al., 2014).

Atualmente são reconhecidos 487 biótipos de plantas daninhas resistentes a herbicida no mundo, envolvendo 254 espécies (HEAP, 2018). Na Austrália, um clássico caso de resistência a vários mecanismos de ação são plantas de *L. rigidum*, onde biótipos apresentam resistências simples, cruzada e múltipla, envolvendo dez mecanismos de ação (HEAP, 2018). Este fato é alarmante na história da resistência a herbicidas e essa evolução representa um sério desafio para a utilização sustentável de recursos, tais como agrotóxicos (YU; CAIRNS; POWLES, 2007).

No caso de *L. multiflorum*, mundialmente a espécie apresenta resistências simples, cruzada e múltipla, envolvendo oito mecanismos de ação (HEAP, 2018). No Brasil existem biótipos acumulando resistências simples, cruzada e múltipla a três mecanismos de ação (HEAP, 2018). O primeiro caso de resistência a azevém ocorreu em 2003 ao glyphosate, herbicida inibidor da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), sendo a resistência atrelada ao uso continuado e repetido do herbicida em pomares de maçã, devido ao custo ser relativamente baixo, apresentar alta eficiência sobre diferentes espécies, independente do estágio vegetativo (ROMAN et al., 2004). Atualmente a resistência a glyphosate encontra-se distribuída em praticamente todos os municípios da região sul do país.

Devido à resistência do azevém ao glyphosate, a principal alternativa para o manejo da espécie foram os inibidores da enzima acetil-coenzima-A-carboxilase (ACCase) (SCHNEIDER; VARGAS; AGOSTINETTO, 2015), sendo em 2010 relatado o primeiro caso de resistência a este mecanismo de ação (VARGAS et al., 2013). Já,

a resistência do azevém aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) também constada em 2010, decorreu do uso repetido e continuado de iodosulfuron, devido à seletividade desta molécula as culturas do trigo e cevada com adequado controle das principais plantas daninhas infestantes dessas culturas (MARIANI et al., 2015).

Em cereais de inverno todos herbicidas registrados para o controle de azevém em pós-emergência, pertencem aos inibidores da ALS e ACCase (AGROFIT, 2018). A presença de abundante banco de sementes com biótipos de azevém envolvendo resistência cruzadas a todos herbicidas seletivos utilizados em pós-emergência, podem inviabilizar o manejo químico da planta daninha na área (LYON; HUGGINS; SPRING, 2016; HEAP, 2018). Essa situação se agrava à medida que estas populações de azevém se cruzam com plantas até então suscetíveis, transmitindo a resistência e deixando como herança para seus descendentes essa característica (VARGAS; MORAES; BERTO, 2007; MARIANI et al., 2015), e assim, se não forem tomadas medidas de manejo alternativo para essas populações, elas podem disseminar rapidamente em toda área, bem como áreas vizinhas.

A viabilidade das sementes de azevém no solo é relativamente curta, sendo que independentemente do tipo de solo, precipitação e profundidade de enterrio, a viabilidade das sementes foi de apenas 24 meses (NARWAL; SINDEL; JESSOP, 2008). Na Austrália para manejar o azevém resistente a herbicidas em cereais de inverno, têm sido efetuado o enleiramento e queima dos resíduos da cultura logo após a colheita de grãos, visando minimizar a entrada de sementes no banco de sementes do solo (LYON; HUGGINS; SPRING, 2016). Com o mesmo intuito, outra alternativa encontrada pelos agricultores deste país, foi o uso de equipamento acoplado a colhedora com a finalidade de destruir sementes de azevém descartado após o processo de limpeza da colhedora (LYON; HUGGINS; SPRING, 2016).

Estratégias de manejo integrado de plantas daninhas menos danosas ao ambiente e com menor consumo de combustíveis, que se baseiem em técnicas que reduzem a incorporação de sementes de azevém resistentes a herbicidas no banco de sementes do solo, são importantes a fim de reduzir a disseminação da resistência, seja na área ou em áreas vizinhas. Dentre estas medidas pode-se destacar a eliminação das plantas que sobreviverem à aplicação do herbicida, pelo corte, enfardamento e retirada destas plantas da área, bem como o manejo da planta daninha antes que complete a antese (PRESTON et al., 2009).

Outras práticas como a rotação de culturas, através da semeadura de diferentes culturas nas safras ou, manejos que objetivem o fortalecimento da capacidade competitiva da cultura, representada pelo seu rápido estabelecimento e desenvolvimento também são técnicas que podem ser utilizadas para manejar a resistência (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2003).

A comparação da habilidade competitiva e valor adaptativo da cultura ou planta daninha podem estar relacionados, à capacidade de apreensão ou menor necessidade dos recursos do meio, bem como a emergência antecipada em relação à outra espécie (AGOSTINETTO et al., 2013). Sendo que, para determinar interações competitivas entre culturas e plantas daninhas, existem vários métodos, porém todos levam em consideração fatores de densidade, proporção e arranjo espacial entre as plantas (RADOSEVICH, 1987). O valor adaptativo refere-se ao sucesso evolutivo combinando características de sobrevivência e reprodução (HOLT; RADOSEVICH, 1983), sendo utilizadas taxas de crescimento e produção de sementes, detectando assim possíveis diferenças funcionais e estruturais entre genótipos (HOLT; RADOSEVICH, 1983).

A habilidade competitiva entre trigo e azevém, demonstra que quando as espécies ocorrem em proporções iguais de plantas nas associações, o azevém é menos competitivo que a cultura (RIGOLI et al., 2008). Biótipos de *L. multiflorum* suscetível ao herbicida glyphosate acumulam mais matéria seca, possuem maior capacidade de produção de sementes e capacidade competitiva que biótipos resistentes (VARGAS et al., 2005; FERREIRA et al., 2008). Já em cevada, o azevém foi mais competitivo que a cultura, por explorarem o mesmo nicho ecológico, e competir pelos mesmos recursos do meio, seja no tempo e/ou no espaço (GALON et al., 2011). Sendo assim o azevém necessita de controle mesmo em pequenas populações, quando em competição com essa cultura.

Cultivares tetraploides quando introduzidas em áreas com azevém diploide resistente a herbicidas também estão sujeitos à competição por recursos que podem se tornar limitantes para uma ou ambas espécies. Cultivares tetraploides são mais competitivas e apresentem maior capacidade de ocupar o nicho ecológico do que as plantas diploides da mesma espécie (GILLILAND et al., 2011). Esta ferramenta pode ser interessante, quando se objetiva reduzir a população resistente a herbicidas. Por outro lado, uma limitação pode ser o cruzamento entre os genótipos diploides resistentes a herbicidas e cultivares tetraploides originando progênie resistente a

herbicidas. Uma vez que, o fluxo gênico pode facilitar a disseminação dos genes de resistência (JASIENIUK; BRÛLÉ-BABEL; MORRISON, 1996), seja via pólen ou através movimento de sementes (MAXWELL; MORTIMER, 1994).

O resultado normal do cruzamento envolvendo plantas diploides e tetraploides são indivíduos triploides ($3n$) viáveis, mas estéreis devido à presença de cromossomos não pareados na meiose (RUCHEL et al., 2015). A obtenção de triploides a partir cruzamento diploide x tetraploide ocorre em pequena proporção (1/166) sendo que as plantas apresentam problemas de germinação e até mesmo a morte das plântulas logo após a germinação (BUSTAMANTE et al., 2015). Portanto, a compreensão da herança da resistência em espécies de plantas daninhas resistentes a herbicidas, mesmo em espécies que envolvam diferença de ploidia, pode ser útil para prever o impacto das estratégias de manejo sobre o destino do(s) alelo(s) de resistência (MOHSENI-MOGHADAM; SCHROEDER; ASHIGH, 2013).

Para identificar o nível de ploidia de cada planta, podem ser utilizadas medidas diretas e indiretas. Como o aumento celular é um dos efeitos da duplicação cromossômica, caracteres citológicos de tamanho das células-guarda nos estômatos (MORGAN et al., 2003), densidade por área e tamanho de estômatos (BECK; DUNLOP; FOSSEY, 2003) e diâmetro dos grãos de pólen (OMIDBAIGIA et al., 2010) são medidas indiretas. Outra alternativa é a estimativa através da determinação da quantidade de DNA nuclear, que pode ser realizada por microdensitometria, ou por citometria de fluxo (BUSTAMANTE et al., 2015). Sendo todas validadas por uma medida direta, que é a contagem cromossômica clássica a partir de lâminas histológicas (BUSTAMANTE et al., 2015).

Na introdução de genótipos nos sistemas agrícolas é importante verificar o comportamento a herbicidas (GALON et al., 2010), visando tanto a seletividade quanto o controle. Em relação à resposta dos genótipos de azevém ao herbicida glyphosate, o tetraploide apresenta capacidade de tolerar 1,6 vezes mais o herbicida, do que o genótipo diploide (DORS et al., 2010). Por outro lado, os herbicidas 2,4-D, diclosulam, saflufenacil, flumioxazin, metsulfuron-methyl e chlorimuron-ethyl, na dose de registro, apresentam seletividade para o azevém tetraploide e potencialidade para o manejo de buva no período de inverno (DALAZEN; KRUSE; MACHADO 2015).

As hipóteses desse trabalho foram que o azevém tetraploide apresenta ciclo, valor adaptativo, habilidade competitiva superior, quando comparado ao genótipo

diploide; o azevém tetraploide apresenta resposta de controle e seletividade a herbicidas, similar a populações de azevém diploides não resistentes; sementes de azevém enterradas em maiores profundidades apresentam maior longevidade, independentemente do nível de ploidia; o cruzamento entre genótipos diploides e tetraploides de azevém ocorre naturalmente, porém devido à presença de cromossomos não pareados na meiose, os indivíduos gerados apresentam taxa de sobrevivência reduzida e não transferem a resistência ao glyphosate para a próxima geração.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivos: identificar e comparar o desenvolvimento fenológico, custo adaptativo e habilidade competitiva entre genótipos de azevém diploide e tetraploide; avaliar o efeito de doses de herbicidas pós-emergentes sobre a seletividade, e herbicidas em diferentes estádios de aplicação para controle de azevém tetraploide; determinar a longevidade de sementes dos genótipos de azevém diploide e tetraploide (*L. multiflorum*) expostas a diferentes profundidades e tempo de enterrio; determinar a qualidade fisiológica, viabilidade, sobrevivência, herança da resistência ao glyphosate e número de cromossomos em cruzamentos de genótipos de azevém, envolvendo ploidia e resistência ao glyphosate do genótipo diploide.

2. CAPÍTULO I – Custo adaptativo e habilidade competitiva entre genótipos de azevém com diferentes níveis de ploidia.

2.1 Introdução

O *Lolium multiflorum* (azevém) é uma das principais espécies forrageiras de inverno que compõe os sistemas agrícolas do Sul do Brasil, devido às qualidades bromatológicas, aliadas ao baixo custo de produção, com potencial de ressemeadura natural (AGUINAGA et al., 2008). Por outro lado, a espécie é considerada uma planta daninha aos cereais de inverno devido a persistência das sementes no solo e germinação escalonada gerando fluxos de germinação heterogêneos que, dificultam a adoção de rotação de culturas e de práticas de manejo eficientes para controle dessa espécie, interferindo negativamente no desenvolvimento e na produtividade das culturas (TIRONI et al., 2014).

O controle químico, por apresentar praticidade, eficiência e menor custo quando comparado a outros métodos de controle, é considerado o principal método de manejo para azevém (CÔRREA et al., 2014). Porém, o uso continuado e repetido de herbicidas, com o mesmo mecanismo de ação, resultou na seleção de biótipos resistentes (HEAP, 2014). Atualmente, existem biótipos de azevém com resistência simples e múltipla aos herbicidas inibidores da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) (ROMAN et al., 2004), acetil coenzima-A carboxilase (ACCCase) (VARGAS et al., 2013) e acetolactato sintase (ALS) (MARIANI et al., 2015).

A resistência a estes mecanismos de ação dificulta a adoção do manejo químico, devido à escassez de moléculas pós-emergentes, seletivas aos cereais de inverno e a canola, existentes no mercado (KAUNDUN et al., 2013). Dessa forma, é necessário encontrar alternativas de manejo que possam contribuir para redução

dos bancos de sementes de azevém e seus efeitos negativos sobre as culturas (GOGGIN; POWLES, 2014).

O crescente uso azevém tetraploide como planta forrageira pode ser uma alternativa ao azevém diploide com resistência aos herbicidas inibidores da EPSPs, ACCase e ALS (OLIVEIRA et al., 2014), uma vez que, a poliploidia pode fornecer cultivares mais competitivas e que apresentem maior capacidade de ocupar o nicho ecológico do que as plantas diploides da mesma espécie (GILLILAND et al., 2011). Além disso, o azevém tetraploide apresenta desenvolvimento fenológico mais longo, maior produção de massa seca e melhor qualidade bromatológica quando comparado à espécie diploide (GILLILAND et al., 2007). Com a indução da poliploidia, o custo adaptativo e a habilidade competitiva podem ser alterados, devido à modificação da expressão gênica de substâncias responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento celular e, pela biossíntese de metabólitos secundários e de resposta a estresses, quando comparados às plantas diploides (ZHOU et al., 2015).

A comparação entre os genótipos de azevém através do custo adaptativo, embora não sejam oriundos do mesmo local de origem, é importante ferramenta para entender o crescimento, a sobrevivência e a produção de sementes dos genótipos em função do aproveitamento dos recursos do ambiente. Além disso, estudos de habilidade competitiva entre genótipos com diferentes níveis de ploidia permitem desenvolver estratégias de manejo, a fim de evitar a disseminação da resistência em função das alterações no crescimento e desenvolvimento sobre o genótipo de interesse.

Esse estudo teve como hipótese que o azevém tetraploide apresenta ciclo, valor adaptativo, habilidade competitiva superior, quando comparado ao genótipo diploide. O objetivo do estudo foi identificar e comparar o desenvolvimento fenológico, custo adaptativo e habilidade competitiva entre genótipos de azevém diploide e tetraploide.

2.2 Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, pertencente ao Centro de Herbologia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas (CEHERB/FAEM/UFPel). Os tratamentos foram dispostos em

delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições, durante o período de maio a dezembro de 2016. Cada unidade experimental (vasos plásticos) foi preenchida com solo, classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo de textura franco-arenosa, pertencente à unidade de mapeamento de Pelotas-RS (EMBRAPA, 2013), sendo a correção do pH e adubações de base e cobertura, realizadas conforme análise do solo, baseada nas recomendações de adubação e calagem de forrageiras gramíneas de estação fria (TEDESCO et al., 2004). A irrigação das plantas foi realizada manualmente, onde a umidade do solo foi mantida em capacidade de campo. Os genótipos de azevém utilizados nos experimentos foram o diploide (comum), oriundos de Passo Fundo (coordenadas 28°13'49" S e 52°24'23" O) e tetraploide (c.v. INIA TITAN®).

As demais metodologias seguem descritas em cada experimento.

2.2.1 Experimento I: Desenvolvimento fenológico dos genótipos

Para determinar o intervalo de tempo necessário para os genótipos atingirem os estádios fenológicos, uma planta foi alocada em vaso de polietileno, com diâmetro de 23 cm e capacidade volumétrica para 6 dm³. Adotou-se a escala de Bleiholder et al. (1991), onde foram considerados, a partir da semeadura (SE), a emergência (EM); primeira folha completa sai do coleóptilo (PC); afilhamento (AF); alongação (EL); Bainha da folha bandeira inicia alongação (BF); espigamento (ES); florescimento (FL); grão aquoso (GA); grão leitoso (GL); grão pastoso (GP); e, maturação plena (MP). Cada estágio fenológico pré-determinado foi considerado quando 50+1% das plantas apresentavam as mesmas características fenotípicas.

2.2.2 Experimento II: Custo Adaptativo

Neste experimento, cada unidade experimental foi composta por uma planta de azevém alocada em vaso de polietileno, com diâmetro de 23 cm e capacidade volumétrica para 6 dm³. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial (2 x 8), onde o fator A foi constituído pelos genótipos de azevém diploide (comum) e tetraploide (c.v. INIA TITAN®); e, o fator B, pelas oito épocas de coleta: 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 e 120 dias após a emergência (DAE).

As variáveis de crescimento analisadas em cada época foram: estatura de plantas (EP); número de afilhos (NA); área foliar (AF); massa seca da parte aérea (MSPA); massa seca de raiz (MSR); índice de área foliar (IAF); razão de área foliar (RAF); e, taxa de crescimento absoluto (TCA). A determinação da AF foi determinada com auxílio de medidor de área foliar (LICOR 3100C), enquanto a EP foi quantificada com auxílio de régua milimétrica, aferindo-se o comprimento desde rente ao solo até o ápice da planta, com o limbo foliar estendido. A MSPA e MSR foram obtidas após coleta e secagem em estufa de circulação forçada de ar, a 60°C por 72 h, sendo pesadas em balança analítica e os valores expressos em g planta⁻¹. O IAF, expressa a relação entre a área foliar total por unidade de área do solo, indicando a superfície disponível para interceptação e absorção de luz. A RAF, em cm² g⁻¹, representa a relação de AF e MSPA, demonstrando a área foliar disponível para a fotossíntese, obtida através da equação: $RAF = (AF_1 + AF_2)/(MSPA_1 + MSPA_2)$. A TCA, em g dia⁻¹, mensura a velocidade média de crescimento em determinado período de tempo, foi obtido pela equação: $TCA = (MSPA_2 - MSPA_1)/(T_1 - T_2)$, em que MSPA1 e MSPA2 são a variação da MSPA em duas amostras consecutivas tomadas nos tempos T₁ e T₂ (MAGALHÃES, 1979).

Os componentes de produtividade avaliados na maturidade fisiológica foram: número de espigas por planta (NEP); número de sementes por espiga (NSE) e número de espiguetas por espiga (NEE), obtidos pela contagem em dez espigas coletadas ao acaso; número de sementes cheias por espiguetas (NSC) e número de sementes por planta (NSP), obtido das sementes cheias de dez espigas, onde a média do NSP foi multiplicado pela NEP; massa de sementes por espiga (MSE), obtida pela determinação da massa de sementes em dez espigas; e, peso de mil sementes (PMS), obtido através verificação da massa de oito sub-amostras de 100 sementes.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk), posteriormente submetidos à análise de variância (p≤0,05). No caso de significância estatística, realizou-se análise de regressão para o fator épocas de avaliação, para todas as variáveis, utilizando o modelo sigmoidal não linear: $y = a/(1+e^{-(x-x_0)/b})$, sendo que y representa a variável resposta; x são os dias após a emergência; e, a, x₀ e b são parâmetros da equação, em que a é a diferença entre os pontos máximo e mínimo da curva, x₀ são os dias que proporcionam 50% de resposta da variável e b é a declividade da curva. Para os componentes de

produtividade dos genótipos, a comparação das médias para cada variável resposta foi realizada através do teste t ($p \leq 0,05$).

2.2.3 Experimento III: Habilidade competitiva

Para este estudo foram realizados experimentos em série aditiva e de substituição, onde cada unidade experimental foi composta de vasos com capacidade volumétrica de 4 dm³ e diâmetro de 19 cm. Os monocultivos (série aditiva) dos genótipos de azevém (diploide e tetraploide) foram instalados em populações crescentes de 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 e 128 plantas por vaso (equivalentes a 35, 70, 140, 280, 560, 1.120, 2.240 e 4.480 plantas m⁻²). A coleta da MSPA foi realizada aos 50 dias após a emergência (DAE), nos quais os dados obtidos foram analisados pelo método da produção recíproca (GALON et al., 2011). Os resultados obtidos, na média dos genótipos, indicaram que a MSPA foi constante e independente da população, para 1693 plantas m⁻², equivalente a 48 plantas vaso⁻¹ (dados não apresentados).

A partir da população obtida por vaso, foi realizado o experimento em série de substituição, onde os genótipos foram mantidos em monocultivo ou associados em proporções variáveis. As combinações utilizadas foram: 100:0 (monocultivo de azevém tetraploide), 75:25, 50:50, 25:75 e 0:100 (monocultivo de azevém diploide). Os genótipos foram previamente semeados em bandejas e transplantados equidistantes aos quatro dias após a emergência das plântulas, sendo realizada a avaliação da AF, EP, NA e MSPA de todas as plantas da unidade experimental aos 50 DAE.

Para análise da AF, EP, NP e MSPA foi utilizado a metodologia de análise gráfica proposta para experimentos substitutivos (RADOSEVICH; HOLT; GHERSA, 2007; ROUSH et al., 1989; COUSENS, 1991), que consiste na construção de diagramas com base na produtividade relativa (PR) e produtividade relativa total (PRT) para cada proporção utilizada e cada variável resposta. A PR de cada genótipo foi calculada pela divisão entre a média da associação e a média do monocultivo e, a PRT foi obtida pela soma das PR nas respectivas proporções de plantas (HOFFMAN; BUHLER, 2002), onde os efeitos de competição são verificados com base nas retas teóricas traçadas entre a máxima e mínima PR (100 a 0%) e entre os pontos 100% para PRT. Se PR for igual à reta teórica, indica ausência de

interferência entre os genótipos. Caso PR resultar em linha côncava caracteriza que houve prejuízo no crescimento de um ou de ambos os genótipos e, caso PR formar linha convexa revela que houve benefício no crescimento de um ou de ambos genótipos. A PRT formando linha igual à reta teórica aponta que ocorre competição pelo(s) mesmo(s) recurso(s); quando PRT for superior a um (linha convexa) mostra que não ocorre competição pelos recursos do meio; e, quando inferior a um (linha côncava), a PRT indica que ocorre antagonismo, ou seja, o crescimento de ambos genótipos foi prejudicado (COUSENS, 1991).

Foram calculados os índices de competitividade relativa (CR), coeficientes de agrupamento relativo (K) e competitividade (C) na proporção de 50% das plantas de cada genótipo (HOFFMAN; BUHLER, 2002). O CR representa o crescimento comparativo entre os genótipos; o K indica a dominância relativa de um genótipo sobre outro; e, C demonstra qual genótipo é mais competitivo (COUSENS, 1991), sendo que o genótipo tetraploide será mais competitivo quando $CR > 1$, $K_a > K_b$ e $C > 0$ e, vice-versa.

Para realizar a análise estatística da produtividade relativa, inicialmente, calculou-se a diferença para os valores de PR, ou seja, as diferenças relativas de produtividade (DPR), obtidos nas proporções de 25, 50 e 75% de plantas, em relação aos valores pertencentes às retas hipotéticas nas respectivas proporções. Posteriormente foi realizado o teste “t” a 5% de probabilidade, para verificar as diferenças nos índices DPR, PRT, CR, K e C (ROUSH et al., 1989; HOFFMAN; BUHLER, 2002). Considerou-se, como hipótese de nulidade ($H_0 = 0$) para testar as diferenças de DPR e C; para PRT e CR, que elas fossem iguais a 1 ($H_0 = 1$); e para K, que as médias das diferenças entre K_a e K_b fossem nulas [$H_0 = (K_a - K_b) = 0$]. O critério adotado para considerar se as curvas de PR e PRT fossem diferentes das retas teóricas é que, no mínimo em duas proporções, ocorre-se diferença significativa pelo teste “t”. Já, para os índices CR, K e C, a existência de diferença em competitividade quando, no mínimo em dois deles, houvesse diferença significativa pelo teste “t” (BIANCHI, et al., 2006).

Os resultados médios obtidos para as variáveis AF, MS, EP e NP foram avaliados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e, posteriormente, submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Quando constatada significância estatística para AF, MS, EP e NP, as médias dos tratamentos foram comparadas

pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$), tendo como tratamento padrão o respectivo monocultivo.

2.3 Resultados e Discussão

Os resultados e discussão serão apresentados de acordo com a sequência das atividades apresentadas no material e métodos.

2.3.1 Experimento I: Desenvolvimento fenológico dos genótipos

Observou-se que a duração em dias dos estádios fenológicos do azevém, ou seja, os períodos compreendidos entre a emergência e maturidade fisiológica apresentam diferença entre os genótipos, enquanto o azevém diploide completa o desenvolvimento fenológico em 160 dias, o tetraploide necessita de 205 dias (Figura 1).

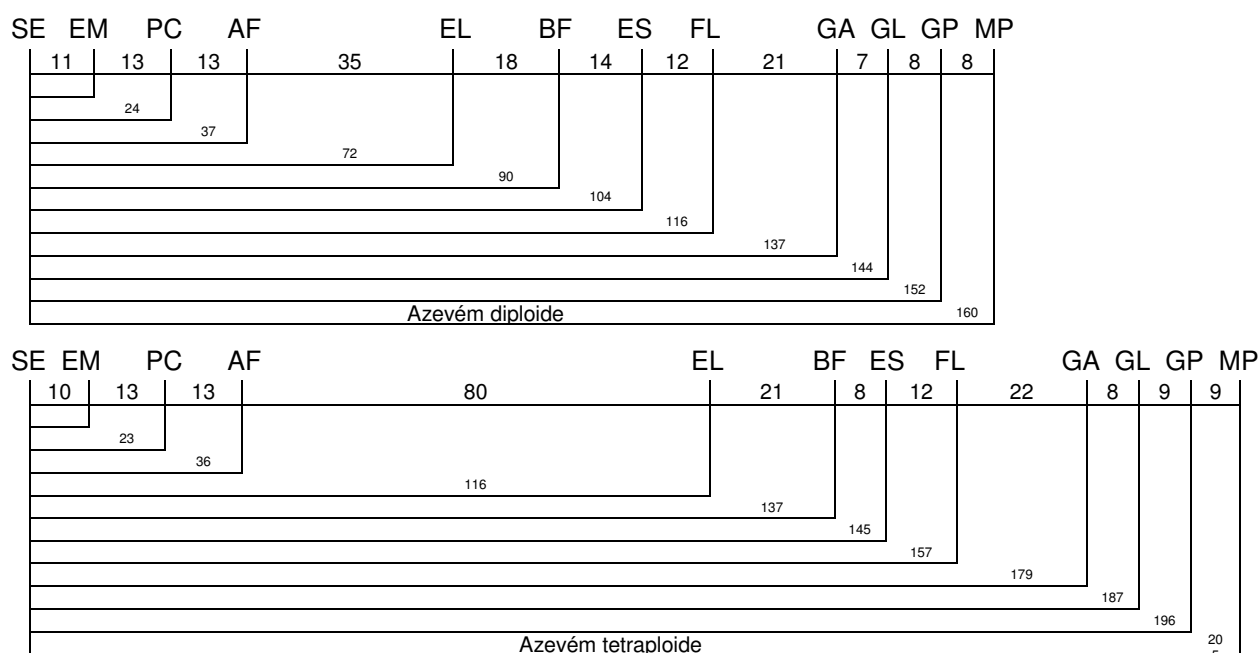


Figura 1- Duração em dias dos estágios fenológicos de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN[®]) com base na escala fenológica adaptada de Bleiholder et al. (1991). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016. Semeadura (SE); Emergência (EM); Primeira folha completa sai do coleótilo (PC); Afilhamento (AF); Elongação (EL); Bainha da folha bandeira inicia elongação (BF); Espigamento (ES); Florescimento (FL); Grão aquoso (GA); Grão Leitoso (GL); Grão pastoso (GP); Maturação plena (MP). Escala 1:12,8 (Cada cm representa 12,8 dias).

O período compreendido entre o afilhamento e alongação foi o principal estágio responsável pela diferença de desenvolvimento fenológico entre os genótipos, em que, o azevém tetraploide necessitou de 35 dias a mais que o diploide para completar este período. A maior fase vegetativa do genótipo tetraploide é resultado do melhoramento genético, que objetivou maior período de pastejo e qualidade bromatológica da forragem (TONETTO et al., 2011).

Na interação de plantas em ambiente com recursos limitados, o ciclo é o fator que mais interfere na competição por recursos e na eficiência de utilização destes, para o crescimento. Neste sentido, cultivares de arroz com ciclo tardio, foram mais eficientes que cultivares de ciclo curto na supressão do crescimento da cultivar simuladora de arroz-vermelho, resultando em menores reduções de produtividade (BALBINOT JR. et al., 2003).

Ressalta-se que o planejamento deve ser primordial, quando se objetiva a produção de sementes do genótipo tetraploide, seja para colheita ou abastecimento do banco de sementes do solo, sem comprometer a época adequada de estabelecimento dos cultivos de verão adotados em sucessão. De acordo com os resultados encontrados, o azevém tetraploide necessita ser semeado até o início do mês de maio, para completar o desenvolvimento fenológico, sem comprometer a semeadura da soja, que poderá ser realizada ainda na primeira quinzena de novembro.

2.3.2 Experimento II: Custo Adaptativo

A análise dos resultados obtidos no experimento evidenciou não ser necessária a transformação dos dados, com base no teste de Shapiro-Wilk. A análise de variância indicou ocorrer interação entre os fatores genótipos e as épocas de avaliação para todas as variáveis, sendo que, o modelo sigmoidal apresentou ajuste satisfatório onde os coeficientes de determinação (R^2) variaram de 0,88 a 0,99 (Figuras 2 a 9).

Para a variável número de afilhos (NA), verificou-se através do intervalo de confiança, diferença significativa entre os genótipos a partir dos 60 DAE, sendo que na última avaliação (120 DAE) o NA foi 47% superior para o azevém tetraploide (Figura 2). Através do parâmetro (x_0) da equação, verificou-se que o tempo necessário para produção de 50% do NA, foi de 65 e 73 DAE para o azevém

diploide e tetraploide, respectivamente. Para o parâmetro “a”, que representa a diferença entre os pontos máximo e mínimo da equação, as plantas tetraploides apresentaram-se 47% superiores as plantas diploides. Cabe ressaltar que, plantas com elevado NA apresentam vantagens na ocupação do espaço e, conseqüentemente, podem suprimir o crescimento de plantas vizinhas (TIRONI et al., 2014).

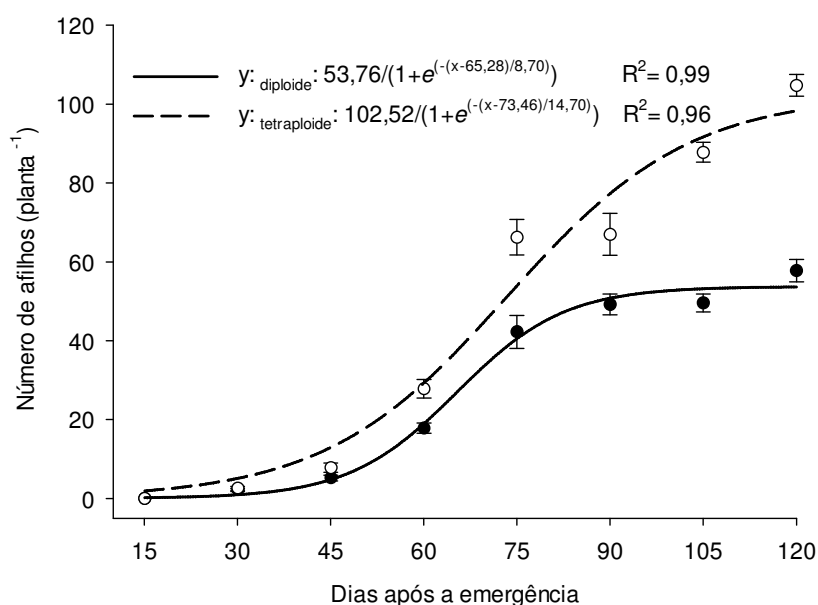


Figura 2- Número de afixos (NA) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN[®]) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada genótipo em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança apresentado por cada tratamento ($p < 0,05$).

Para o genótipo tetraploide, foi constatada estatura (EP) 20% superior ao diploide até 45 DAE (Figura 3). Isto pode decorrer do elevado vigor inicial, o que possibilita rápido estabelecimento das plantas, característica desejável quando se deseja elevar a competitividade com plantas daninhas. Aos 60 DAE, a EP de ambos genótipos foi similar, mas nas demais épocas de avaliação, o azevém diploide apresentou maior estatura comparado ao tetraploide, com valores 24% superiores aos 120 DAE. Esta característica morfológica importante envolvida na captação de luz especialmente na fase inicial do estabelecimento, onde plantas com maior estatura e área foliar apresentam vantagens na interceptação da radiação solar, favorecendo o acúmulo de carbono (PONTES et al., 2003).

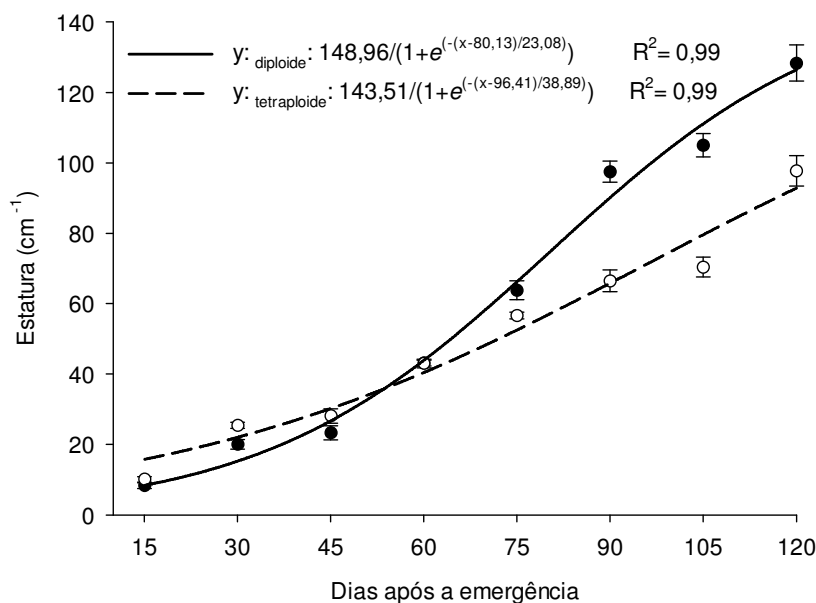


Figura 3- Estatura (EP) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN[®]) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada genótipo em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança apresentado por cada tratamento ($p < 0,05$).

Em relação ao acúmulo da massa seca da parte aérea (MSPA), o comportamento entre os genótipos foi similar até 75 DAE (Figura 4). A partir do intervalo de confiança, foi constatado que o azevém diploide apresentou acúmulo 18% superior ao tetraploide aos 90 DAE e 15% inferior aos 120 DAE. O acúmulo de MSPA é dependente da relação colmo:folha, onde o conteúdo de água nestes órgãos influenciam nesta característica (TONETTO et al., 2011).

O maior acúmulo de MSPA do azevém diploide a partir dos 90 DAE, e do tetraploide aos 120 DAE, ocorreu devido às plantas terem ultrapassado o estágio de alongamento, onde a relação colmo:folha começa a aumentar, resultando em maior acúmulo de carbono e menor quantidade de água nas plantas, que se concentram especialmente nas folhas (Figuras 3 e 4). O maior acúmulo final de MSPA pelo azevém tetraploide cv. INIA TITAN[®], já era esperado, visto que as plantas dispuseram maior tempo para o acúmulo de fotoassimilados, bem como maior quantidade de afilhos em comparação aos genótipos diploides (ROCHA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2014).

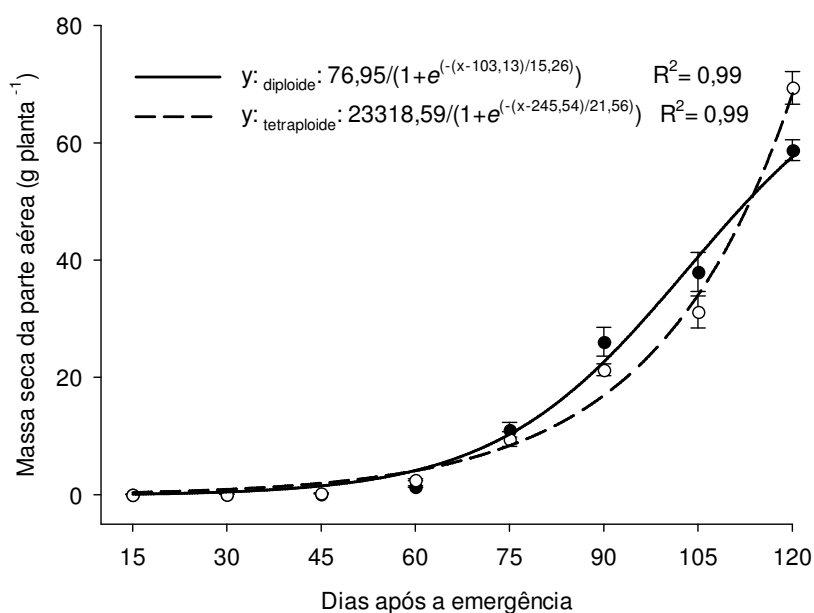


Figura 4- Massa seca da parte aérea (MSPA) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN[®]) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada genótipo em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança apresentado por cada tratamento ($p < 0,05$).

Para massa seca de raiz (MSR), os genótipos apresentaram comportamento similar até os 60 DAE, enquanto nos demais períodos de avaliação o azevém tetraploide demonstrou maior acúmulo, sendo que aos 120 DAE o valor foi 45% superior ao azevém diploide com 39,78 g planta⁻¹ (Figura 5). Plantas de azevém tetraploide apresentam sistema radicular mais desenvolvido, contribuindo no uso eficiente da água e assimilação de nutrientes limitados no ambiente, podendo ainda contribuir na redução da erosão e melhorar as características biológicas do solo através do maior sequestro de carbono (DERU et al., 2014).

Em relação à área foliar (AF), observou-se comportamento distinto para os genótipos, onde o acúmulo de AF foi máximo aos 90 DAE para o azevém diploide, sem haver ponto de máxima AF para o tetraploide durante o período avaliado (Figura 6). Esses resultados podem ser observados pela declividade da curva (parâmetro 'b' da equação), a qual foi cerca de três vezes maior para o azevém tetraploide.

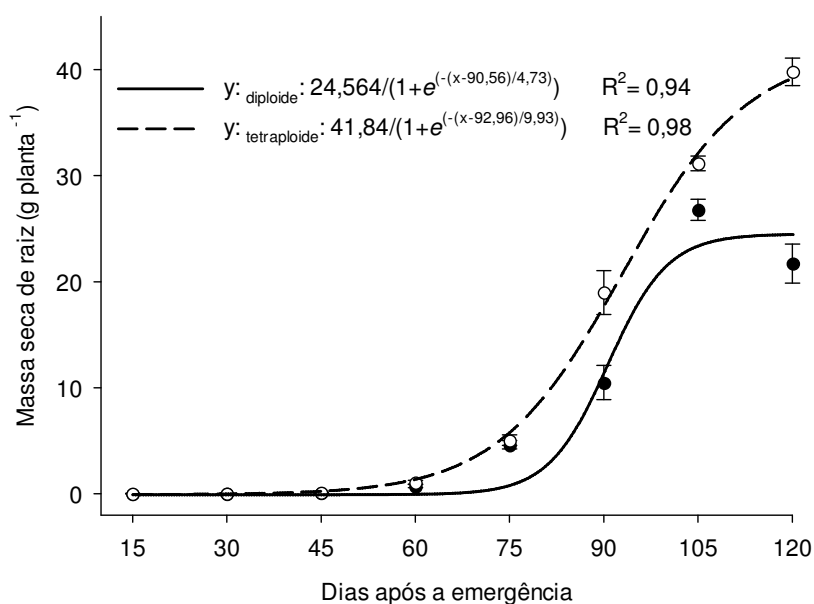


Figura 5- Massa seca de raiz (MSR) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN[®]) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada genótipo em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança apresentado por cada tratamento ($p < 0,05$).

Para índice de área foliar (IAF) o comportamento foi similar a AF, visto que, o crescimento de ambos genótipos ocorreu em área limitada, no entanto, isenta de competição e a mesma disponibilidade de recursos (Figura 7). Os valores de AF e IAF estão diretamente relacionados com a interceptação de luz e capacidade fotossintética, onde plantas com maior IAF e AF são mais eficientes na fixação de CO₂, com vantagens quando submetidas a competição (FRAGA et al., 2012), assim o azevém tetraploide pode ter o crescimento menos prejudicado, quando em competição.

O maior período necessário de tempo (DAE) para o azevém tetraploide atingir 50% de resposta (parâmetro x_0 da equação sigmóide) para as variáveis NA, EP, MSPA e AF ocorreu devido as plantas apresentarem desenvolvimento fenológico mais longo, em especial o período vegetativo, em comparação com às diploides (Figuras 1 a 6).

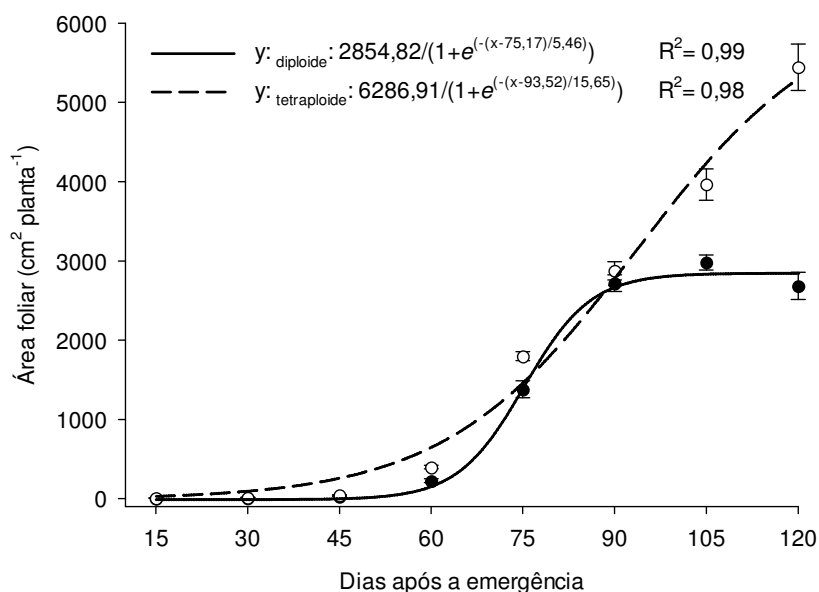


Figura 6- Área foliar (AF) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN[®]) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada genótipo em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança apresentado por cada tratamento ($p < 0,05$).

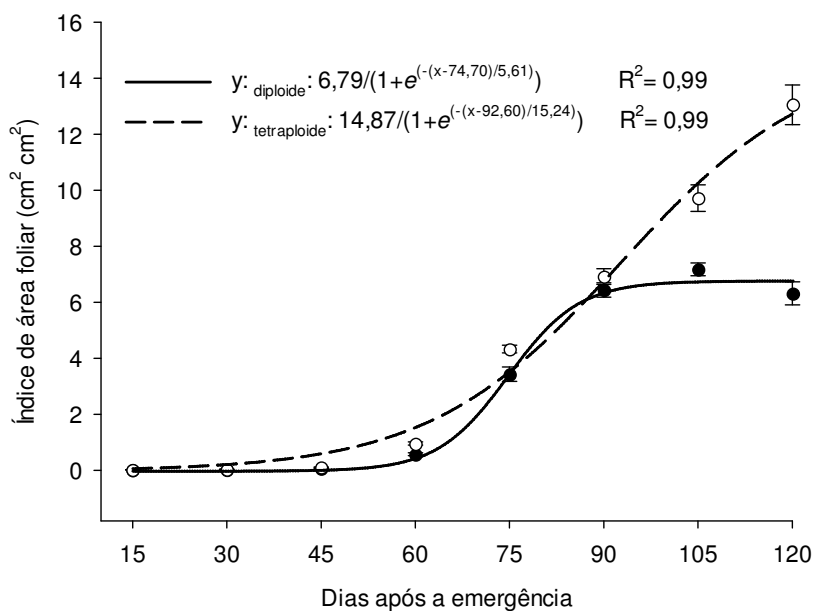


Figura 7- Índice de área foliar (IAF) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN[®]) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada genótipo em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança apresentado por cada tratamento ($p < 0,05$).

Embora plantas tetraploides necessitem de maior período para expressarem seu potencial produtivo de NA, EP, MSPA e AF, a maior produção durante todo período de avaliação para NA; inicial para EP e AF; e, final para MSPA, podem favorecer a capacidade competitiva, causando redução dos recursos ambientais, o que pode resultar na supressão do crescimento de plantas vizinhas (FLECK et al., 2006).

Em ambos os genótipos se observou decréscimo na razão de área foliar (RAF) (Figura 8). Esse comportamento ocorreu devido o investimento de fotoassimilados para o desenvolvimento de colmos, raízes e estruturas reprodutivas, tornando a planta menos eficiente na conversão de energia em função da redução da superfície fotossintetizante (URCHEI et al., 2000). Devido o maior período vegetativo, plantas de azevém tetraploide apresentaram incremento na área foliar por período mais longo, enquanto as diploides alocaram fotoassimilados em colmos e estruturas reprodutivas mais precocemente, desta forma, o decréscimo da RAF para o genótipo diploide foi mais acentuado, sendo estes resultados observados a partir dos 75 DAE, período no qual o azevém diploide iniciava a alongação.

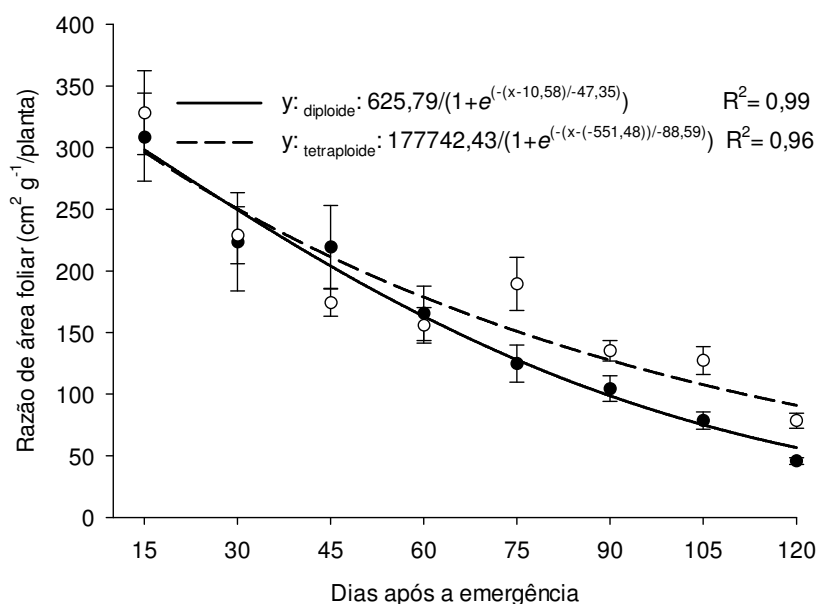


Figura 8- Razão de área foliar (AF) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN[®]) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada genótipo em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança apresentado por cada tratamento ($p < 0,05$).

Para os genótipos, houve tendência de aumento da taxa de crescimento absoluto (TCA) na medida em que as plantas se desenvolveram com estabilização da variável aos 90 DAE para azevém diploide (Figura 9). Por outro lado, o azevém tetraploide não apresentou máxima TCA durante o período avaliado.

O comportamento TCA foi similar ao observado para AF e IAF, sendo reflexo deste, pois o IAF ótimo é alcançado quando a taxa de crescimento da cultura (TCA) também é máxima (ALVAREZ; CRUSCIOL; NASCENTE, 2012).

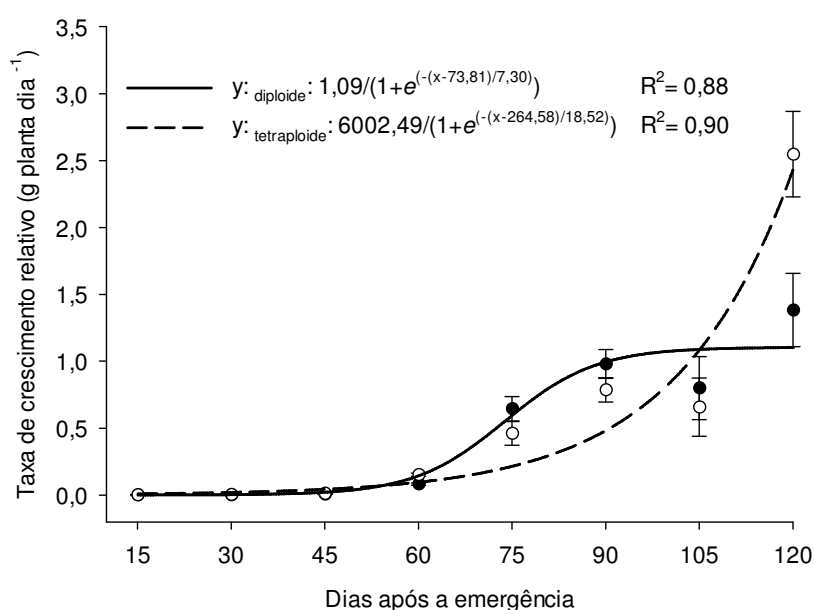


Figura 9- Taxa de crescimento relativo (TCA) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN[®]) avaliados dos 15 aos 120 DAE. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada genótipo em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança apresentado por cada tratamento ($p < 0,05$).

Para os componentes de produtividade, verificou-se que o azevém tetraploide apresentou NEP e NSP 46 e 44% respectivamente, superior em comparação ao diploide (Tabela 1). O maior rendimento de sementes do genótipo tetraploide é reflexo da maior quantidade de afilhos férteis, que resulta no aumento do número de sementes, contribuindo para o maior rendimento da cultivar (MANDIĆ et al., 2014).

O genótipo tetraploide também se observou maior quantidade de espiguetas por espiga (NEE), 19% superior ao diploide, porém menor número de sementes cheias por espiguetas (NSC), resultando em números similares de NSE entre os

genótipos (Tabela 1). O NSC foi 27% maior para o genótipo diploide, enquanto o PMS foi 20% maior para o azevém tetraploide. Esses resultados opostos contribuíram para que a massa de sementes por espiga (MSE) não apresentassem diferença entre os genótipos. O maior PMS favorece o vigor inicial e no desenvolvimento das plântulas (MANDIĆ et al., 2014), sendo que o maior PMS do genótipo tetraploide deve-se a duplicação no número de cromossomos, beneficiando o incremento do tamanho das sementes (BUSTAMANTE et al., 2015).

Tabela 1- Componentes de produtividade do azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN[®]) após maturação a fisiológica. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016.

| Componente de produtividade | Azevém | | C.V. (%) |
|--|----------------------|-------------|----------|
| | diploide | tetraploide | |
| Nº de espigas por planta (NEP) | 40,60* | 75,75 | 13,64 |
| Nº de sementes por planta (NSP) | 10.161* | 18.085 | 10,90 |
| Nº de espiguetas por espiga (NEE) | 24,00* | 29,80 | 5,70 |
| Nº de sementes cheias por espiguetas (NSC) | 11,00* | 8,00 | 8,86 |
| Nº de sementes por espiga (NSE) | 252,00 ^{ns} | 228,14 | 8,30 |
| Massa de sementes por espiga (g) (MSE) | 0,78 ^{ns} | 0,88 | 8,64 |
| Peso de mil sementes (g) (PMS) | 3,08* | 3,87 | 4,87 |

^{ns} Não significativo e * significativo, comparando os genótipos de azevém para cada variável resposta, pelo teste t ($p \leq 0,05$).

Resultados opostos ao deste estudo foram observados em condições de campo, quando a cultivar tetraploide INIA TITAN[®], foi submetida a níveis de corte, apresentando menor produção de sementes, quando comparada a azevém diploide comum, independentemente do número de cortes realizados (TONETTO et al., 2011). Contudo, ressalta-se que o corte pode promover alterações drásticas e negativas nas características morfogênicas e no rendimento de sementes de azevém (CUNHA et al., 2016).

2.3.3 Experimento III: Habilidade competitiva

A análise gráfica do experimento de habilidade competitiva para a PR dos genótipos de azevém nas variáveis NA e EP em geral foram equivalentes e não significativas, uma vez que, os resultados obtidos foram semelhantes às linhas hipotéticas (Figura 10 e Tabela 2). No entanto quando o genótipo tetraploide ocupou 25% da proporção no nicho, permitindo que o afilhamento deste genótipo

aumentasse, já quando o genótipo estava presente em 75% da proporção, observou-se redução do afilhamento do diploide, apesar de não serem considerados significativos, uma vez que em pelo menos duas proporções deve ocorrer diferença significativa (BIANCHI, et al., 2006).

Para as variáveis AF e MSPA verificou-se que o azevém tetraploide aumentou a produção destas variáveis quando presente em igual ou menor proporção de plantas (Figura 11 e Tabela 2). Já, para o diploide, observou-se redução em relação à reta hipotética quando em menor ou maior proporção de plantas na mistura. Desta forma, ocorreu prejuízo para um genótipo e benefício para o outro, mostrando que a competição ocorreu pelos mesmos recursos do meio e que o genótipo tetraploide foi mais eficiente em utilizá-los para o crescimento. Resultados similares foram observados em cultivares tetraploides de *L. perenne* que se apresentaram mais competitivas que cultivares diploides, elevando a sua proporção na pastagem estabelecida acima da razão semeada (GILLILAND et al., 2011; GRIFFITH et al., 2016).

Em combinações de *L. perenne* diploides:tetraploides, quando o genótipo tetraploide representou 10 e 30% na semeadura, a proporção na pastagem aumentou para 32,2 e 56,8% de tetraploide, respectivamente, e quando, os genótipos foram semeados em proporções iguais a composição das plantas tetraploides ocuparam 65% do espaço após dois anos da semeadura (GILLILAND et al., 2011). Esses resultados indicam que o azevém tetraploide foi mais eficiente no uso de recursos, ocupando maior proporção de espaço, sendo que, a estrutura do dossel é o provável fator que afeta na habilidade competitiva dos genótipos (GRIFFITH et al., 2016).

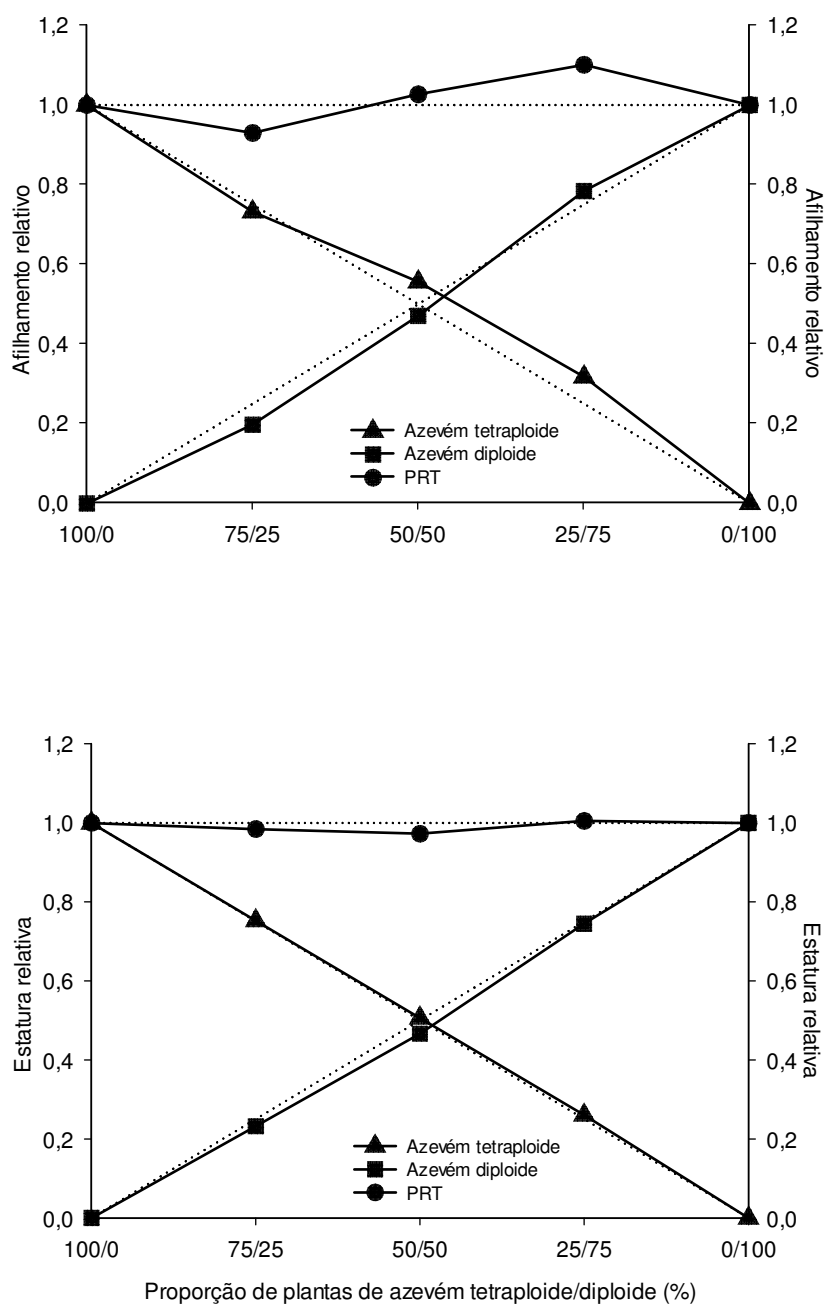


Figura 10- Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para afileamento (NA) e estatura (EP) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN[®]). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016. Triângulos (▲) representam a PR do genótipo de azevém tetraploide, quadrados (■) a PR do genótipo diploide e círculos (●) indicam a PRT. Linhas pontilhadas referem-se às produtividades relativas hipotéticas, quando não ocorre interferência de uma espécie sobre a outra.

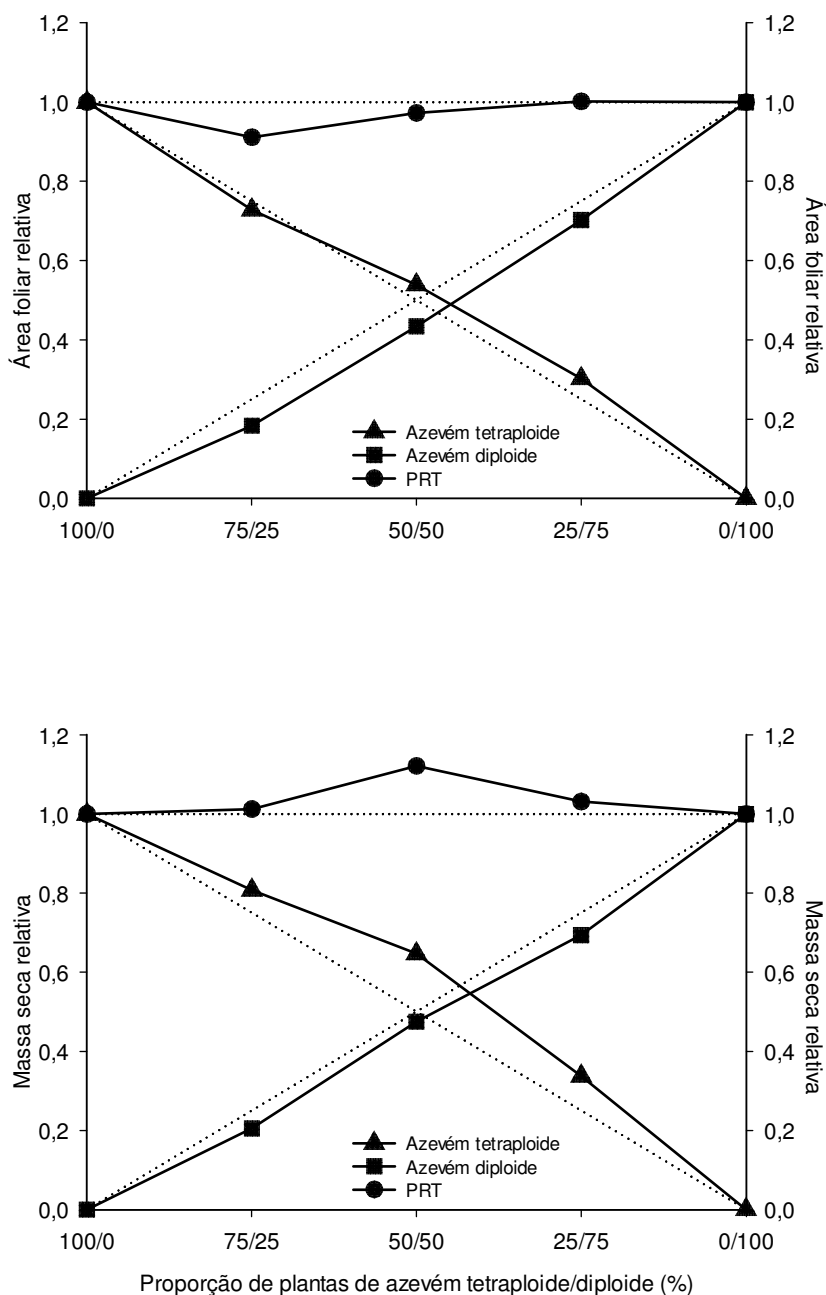


Figura 11- Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para área foliar (AF) e massa seca da parte aérea (MSPA) de azevém diploide (comum) e tetraploide (INIA TITAN[®]). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016. Triângulos (▲) representam a PR do genótipo de azevém tetraploide, quadrados (■) a PR do genótipo diploide e círculos (●) indicam a PRT. Linhas pontilhadas referem-se às produtividades relativas hipotéticas, quando não ocorre interferência de uma espécie sobre a outra.

Com relação à PRT, ocorreram diferenças somente para MSPA na proporção 50:50, onde os valores estimados foram maiores que os esperados (Figura 10; Tabela 2), apesar de não serem considerados significativos, uma vez

que em pelo menos duas proporções deve ocorrer diferença significativa (BIANCHI, et al., 2006). Quando a PRT for > 1 , onde ambos os genótipos testados apresentem valores superiores a reta hipotética, indica que não ocorreu competição pelos recursos. No entanto, para MSPA o genótipo tetraploide apresentou maior PR e o diploide valor similar da PR em relação às retas hipotéticas, proporcionando um valor observado maior que o esperado para PRT. Esse comportamento mostra que um genótipo foi mais competitivo que o outro e contribuiu mais que o esperado no rendimento total (RADOSEVICH; HOLT; GHERSA, 2007).

Tabela 2- Diferenças relativas de produtividade (PR) e produtividade relativa total (PRT), para as variáveis número de afilhos (NA), estatura (EP), área foliar (AF) e massa seca da parte aérea (MSPA), nas proporções de plantas de azevém diploide (comum) e azevém tetraploide (INIA TITAN[®]). FAEM/UFPEL, Capão do Leão/RS, 2016.

| Genótipo | Proporção (%) de plantas associadas (tetraploide: diploide) | | |
|-------------|---|------------------------------------|------------------------------------|
| | 75:25 | 50:50 | 25:75 |
| | Número de afilhos | | |
| Tetraploide | -0,02 ($\pm 0,02$) ^{ns} | 0,06 ($\pm 0,02$) ^{ns} | 0,07 ($\pm 0,01$) [*] |
| Diploide | -0,05 ($\pm 0,01$) [*] | -0,03 ($\pm 0,01$) ^{ns} | 0,03 ($\pm 0,04$) ^{ns} |
| Total | 0,93 ($\pm 0,02$) ^{ns} | 1,03 ($\pm 0,02$) ^{ns} | 1,10 ($\pm 0,05$) ^{ns} |
| | Estatura | | |
| Tetraploide | 0,00 ($\pm 0,02$) ^{ns} | 0,01 ($\pm 0,01$) ^{ns} | 0,01 ($\pm 0,01$) ^{ns} |
| Diploide | -0,02 ($\pm 0,01$) ^{ns} | -0,03 ($\pm 0,01$) ^{ns} | -0,01 ($\pm 0,03$) ^{ns} |
| Total | 0,98 ($\pm 0,03$) ^{ns} | 0,97 ($\pm 0,02$) ^{ns} | 1,00 ($\pm 0,03$) ^{ns} |
| | Área foliar | | |
| Tetraploide | -0,02 ($\pm 0,04$) ^{ns} | 0,04 ($\pm 0,01$) [*] | 0,05 ($\pm 0,01$) [*] |
| Diploide | -0,07 ($\pm 0,00$) [*] | -0,07 ($\pm 0,02$) ^{ns} | -0,05 ($\pm 0,01$) [*] |
| Total | 0,91 ($\pm 0,04$) ^{ns} | 0,97 ($\pm 0,03$) ^{ns} | 1,00 ($\pm 0,02$) ^{ns} |
| | Massa seca da parte aérea | | |
| Tetraploide | 0,06 ($\pm 0,05$) ^{ns} | 0,15 ($\pm 0,01$) [*] | 0,09 ($\pm 0,00$) [*] |
| Diploide | -0,04 ($\pm 0,01$) [*] | -0,03 ($\pm 0,03$) ^{ns} | -0,06 ($\pm 0,01$) [*] |
| Total | 1,01 ($\pm 0,06$) ^{ns} | 1,12 ($\pm 0,03$) [*] | 1,03 ($\pm 0,01$) ^{ns} |

^{ns} Não significativo; ^{*} significativo pelo teste t ($p \leq 0,05$). Valores entre parênteses representam os erros padrões das médias.

As variáveis morfológicas NA, AF e MSPA, do genótipo diploide, foram reduzidas à medida que se aumentou a proporção do tetraploide nas associações (Tabela 3). Para estas mesmas variáveis, resposta inversa foi observada para o genótipo tetraploide, que aumentou a resposta, em função da presença do diploide na associação. A partir desses resultados pode-se inferir que, quanto mais elevada à proporção do tetraploide na associação com o diploide, maiores foram os danos às variáveis do azevém diploide. Também se pode afirmar que, para o azevém tetraploide a competição entre os genótipos foi menos prejudicial do que a intra-

genotípica que ocorreu no monocultivo. Para EP, o efeito foi similar às demais variáveis, no entanto não se encontrou diferença entre as associações de plantas.

Tabela 3- Respostas para número de afilhos (NA), estatura (EP), área foliar (AF) e massa seca da parte aérea (MSPA) de azevém diploide (comum), competindo com azevém tetraploide, c.v. INIA TITAN[®], sob diferentes proporções de plantas. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016.

| Genótipo | Proporção de plantas associadas (tetraploide: diploide) | | | | | C.V. (%) |
|-------------|---|---------------------|---------------------|---------------------|-------|----------|
| | 100:0 | 75:25 | 50:50 | 25:75 | 0:100 | |
| | Número de afilhos (nº/planta) | | | | | |
| Tetraploide | 5,62 | 5,49 ^{ns} | 6,25 ^{ns} | 7,14* | - | 7,50 |
| Diploide | - | 4,35* | 5,18 ^{ns} | 5,74 ^{ns} | 5,50 | 8,12 |
| | Estatura (cm/planta) | | | | | |
| Tetraploide | 37,70 | 37,80 ^{ns} | 38,16 ^{ns} | 39,27 ^{ns} | - | 5,59 |
| Diploide | - | 37,44 ^{ns} | 37,58 ^{ns} | 40,02 ^{ns} | 40,31 | 6,19 |
| | Área Foliar (cm ² /planta) | | | | | |
| Tetraploide | 75,61 | 73,38 ^{ns} | 81,51 ^{ns} | 90,48* | - | 7,82 |
| Diploide | - | 51,15* | 60,58* | 65,37 ^{ns} | 69,80 | 7,26 |
| | Massa seca da parte aérea (g/planta) | | | | | |
| Tetraploide | 0,35 | 0,38 ^{ns} | 0,46* | 0,48* | - | 7,15 |
| Diploide | - | 0,30* | 0,35 ^{ns} | 0,34 ^{ns} | 0,37 | 7,05 |

^{ns} Não significativo e * significativo em relação ao respectivo monocultivo (100%), pelo teste de Dunnett (p≤0,05). C. V. – Coeficiente de variação.

Através dos índices CR, K e C e considerando-se que o azevém tetraploide é mais competitivo que o diploide, quando $CR > 1$, $K_a > K_b$ e $C > 0$ (HOFFMAN; BUHLER, 2002) e, adotando como critério para comprovar sua superioridade competitiva a ocorrência de diferenças em pelo menos dois desses índices (BIANCHI et al., 2006), observou-se, para todas as variáveis que o azevém tetraploide apresentou competitividade superior ao genótipo diploide (Tabela 4).

A diferença significativa para o índice CR demonstra que o crescimento superior do genótipo tetraploide em relação ao diploide. Também, constatou-se dominância do tetraploide sobre o diploide, comprovada pela significância dos índices K e C. Utilizando os mesmos índices (CR, K e C) para definir a interação competitiva entre duas espécies aparentadas geneticamente, verificou-se resultados similares a este trabalho de competição de genótipos de azevém, onde o sorgo cultivado foi mais competitivo que o *Sorghum halepense* (HOFFMAN; BUHLER, 2002).

A capacidade competitiva de genótipos de azevém pode ser afetada por diversos fatores, incluindo o ambiente, a fertilidade do solo, os parâmetros edáficos, a época de semeadura, as características intrínsecas da cultivar e as diferentes

formas de manejo, que podem incluir ou não a presença de animais para o forrageamento. Desta forma, experimentos à campo, e sob diferentes condições, são importantes para verificar o comportamento de genótipos tetraploides, para inferir a eficiência de supressão das populações diploides resistentes a herbicidas.

Considerando que o azevém possui fecundação cruzada e a resistência é do tipo nuclear, transferida via pólen para as plantas suscetíveis (VARGAS; MORAES; BERTO, 2007) e que a diferença de desenvolvimento fenológico, proporcionou retardamento do florescimento do genótipo tetraploide, em comparação ao azevém diploide, pode-se inferir que a utilização do genótipo tetraploide em área com azevém resistente a herbicidas, visando reduzir a frequência da resistência é uma estratégia de manejo a ser preconizada, pois devido a diferença entre períodos de floração, o cruzamento entre os genótipos tende a ser minimizado. Caso a fecundação ocorra, a chance de selecionar triploides é muito baixa, numa proporção de um para 166, pois a presença de cromossomos não pareados dificulta a manutenção do genótipo vivo, apresentando problemas de germinação ou até mesmo a morte da plântula logo após a germinação (BUSTAMANTE et al., 2015).

Tabela 4- Índices de competitividade de azevém tetraploide, c.v. INIA TITAN[®] competindo com azevém diploide (comum), expressos por competitividade relativa (CR), coeficientes de agrupamento relativo (K) e de competitividade (C). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016.

| | CR | Ka | Kb | C |
|-------------------|---------------|----------------------------|--------------|---------------|
| AF ¹ | 1,25 (±0,07)* | 1,17 (±0,04)* | 0,77 (±0,07) | 0,11 (±0,02)* |
| MSPA ² | 1,38 (±0,09)* | 1,84 (±0,10)* | 0,92 (±0,09) | 0,17 (±0,03)* |
| EP ³ | 1,09 (±0,01)* | 1,03 (±0,05) ^{ns} | 0,88 (±0,05) | 0,04 (±0,01)* |
| NA ⁴ | 1,18 (±0,05)* | 1,26 (±0,10)* | 0,89 (±0,03) | 0,09 (±0,02)* |

¹Área foliar; ²Massa seca da parte aérea; ³Estatura; ⁴Número de afilhos; Ka - azevém tetraploide; Kb - azevém diploide; ^{ns} Não significativo e * significativo pelo teste t (p≤0,05). Valores entre parênteses representam os erros padrões das médias.

Em síntese verificou-se que o afilhamento é o principal estágio responsável pela diferença de desenvolvimento fenológico entre os genótipos (Experimento I). O genótipo tetraploide é superior ao diploide quanto à NA, AF, MSR e produção de sementes, quando as plantas se apresentaram livres de competição (Experimento II). Essas características de crescimento permitiram confirmar no ensaio de habilidade competitiva, que o azevém tetraploide é mais competitivo que o diploide, quando as espécies ocorrem em diferentes proporções e ocupam o mesmo nicho ecológico (Experimento III).

A partir desses resultados verificou-se que o genótipo tetraploide apresenta potencial competitivo, para ser utilizado como ferramenta de manejo integrado, visando reduzir a frequência de azevém diploide resistente a herbicidas, em áreas com este problema.

2.4 Conclusões

O maior período de afilhamento para o azevém tetraploide foi o principal fator envolvido na diferença do desenvolvimento fenológico entre os genótipos. Os resultados de custo adaptativo demonstraram que o número de afilhos, área foliar, massa seca de raiz e número de sementes foi superior para o azevém tetraploide e, que este apresenta habilidade competitiva maior que o diploide nas diferentes proporções testadas quando ocupam o mesmo nicho ecológico.

3. CAPÍTULO II – Seletividade e eficácia de herbicidas utilizados no controle de azevém tetraploide.

3.1 Introdução

O azevém (*Lolium multiflorum*) é a principal Poacea anual utilizada como forrageira em sistemas agropastoris da região Sul do Brasil, sendo que, esse sistema se caracteriza pelo pastejo durante a estação fria e antecede a implantação de cultivos de verão como soja e milho, fornecendo palhada no sistema plantio direto. Por outro lado, o azevém pode tornar-se planta daninha em cereais de inverno e canola, e quando empregado rotação de culturas observa-se dificuldades de controle, devido à persistência de azevém no banco de sementes e repetidos fluxos de emergência (ROMAN et al., 2004; MAIA et al., 2009).

Para o manejo de azevém, tanto em dessecação quanto em pós emergência das culturas, dispunha-se de herbicidas eficientes, no entanto o uso repetido e continuado destes produtos químicos resultou na seleção de biótipos resistentes (HEAP, 2018). Biótipos com resistência simples e múltipla foram relatados aos herbicidas inibidores das enzimas 5-enol-piruvil-shiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), acetil-coenzima-a carboxilase (ACCase) e acetolactato sintase (ALS) em lavouras de culturas anuais e pomares na região Sul do Brasil (HEAP, 2018). Esses biótipos resistentes, além de dificultar o manejo de azevém nos cereais de inverno, compromete a dessecação das áreas para cultivo de verão, tornando o azevém, planta daninha nas fases iniciais de cultivos de verão adotado em sucessão à pastagem (AGOSTINETTO et al., 2016).

Para contornar este problema, têm-se a necessidade de utilizar ferramentas para adotar o manejo integrado de plantas daninhas. Dentre estas ferramentas, a aquisição de sementes de azevém isenta de biótipos resistentes, ou ressemeadura

com azevém suscetível, podem auxiliar na redução da disseminação da resistência (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2003). Porém, o azevém apresenta fecundação cruzada, sendo a resistência codificada por genes nucleares semidominantes ao inibidor da EPSPs (VARGAS, MORAES; BERTO, 2007) e de dominância completa para ALS (MARIANI et al., 2015). Isso permite que as características de resistência sejam transferidas rapidamente para a população sensíveis, já que as heranças do tipo nuclear têm rápida disseminação via pólen em espécies de fecundação cruzada (MARIANI et al., 2015).

Para tornar a ressemeadura com azevém suscetível uma alternativa para minimizar o aumento da proporção resistentes:suscetíveis, algumas medidas devem ser adotadas a fim de reduzir a frequência do gene de resistência presente na população e proporcione competição intraespecífica entre os biótipos de azevém (suscetíveis vs. resistentes) (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2003). Dentre essas medidas, o cruzamento entre a própria espécie necessita ser minimizado, seja pela diferença de ciclo (CONTERATO et al., 2016), e/ou produção de híbridos estéreis devido a diferença de ploidia (RUCHEL et al., 2015).

O azevém tetraploide, obtido através da ação antimitótica da colchicina, apresenta essas duas características, podendo auxiliar no manejo da resistência, bem como no fornecimento de forragem de melhor qualidade bromatológica, quando comparado ao azevém diploide (RAMAKRISHNAN, 2004). No entanto, torna-se necessário avaliar a resposta destes genótipos, a herbicidas visando a seletividade e o potencial de controle de plantas daninhas eudicotiledôneas infestantes de pastagens de inverno, bem como, o próprio controle do genótipo, quando deseja-se a implantação de cultivos de verão em sucessão, visto que, estudos reportam diferenças de sensibilidade dos genótipos ao herbicida glyphosate (DORS et al., 2010). Plantas poliploides apresentam maior expressão gênica de substâncias responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento celular, em comparação com plantas da mesma espécie com menor quantidade de cópias do genoma (ZHOU et al., 2015), logo a maior expressão de enzimas alvo de herbicidas pode ser afetada, e conseqüentemente alterar a eficácia dos herbicidas.

Assim, os objetivos deste estudo foram avaliar o efeito de doses de herbicidas pós-emergentes sobre a seletividade, e a aplicação de herbicidas em diferentes estádios fenológicos do azevém tetraploide visando avaliar a eficácia de controle.

3.2 Material e Métodos

Foram conduzidos dois experimentos a campo na área experimental do Centro Agropecuário da Palma (CAP/UFPel), município de Capão do Leão, RS (31°48'30" S, 52°30'14,5" W) entre os meses de maio a agosto de 2016, para o experimento de seletividade e de maio a dezembro de 2017 para o ensaio de controle. A área experimental apresenta solo classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo de textura franco-arenosa, pertencente à unidade de mapeamento Pelotas-RS (EMBRAPA, 2013).

A fim de assegurar a ausência de azevém diploide, ambos os experimentos foram instalados em área com histórico de ausência desta planta daninha. Anteriormente a semeadura realizou-se preparo convencional do solo, a fim de facilitar a operação, minimizar o efeito da cobertura vegetal e irregularidade do terreno sob o experimento. A correção do pH e fertilidade do solo foram ajustadas de acordo com análise de solo, interpretada conforme recomendações técnicas para o cultivo de forrageiras gramíneas de estação fria (TEDESCO et al., 2004).

Para implantação dos experimentos, sementes da cultivar tetraploide INIA TITAN[®] foram distribuídas uniformemente a lanço na quantidade de 25 kg ha⁻¹ e incorporadas com grade niveladora. O delineamento experimental utilizado em ambos experimentos foi o de blocos casualizados (DBC), com quatro repetições, onde as unidades experimentais apresentaram dimensão de 4 x 2 m, totalizando 8 m².

3.2.1 Experimento I: Seletividade de herbicidas pós-emergentes em azevém tetraploide

No experimento de seletividade de herbicidas pós-emergentes em azevém tetraploide, a espécie foi cultivada até o estágio de afilhamento pleno, quando foram aplicados os tratamentos. Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 7x3, sendo o Fator A constituído pelos herbicidas e o B pelas doses 0, 1 e 2x (Tabela 5). Na qual, a dose 1x de cada herbicida, refere-se a menor dose de registro para o controle de buva, nabo ou corda-de-viola em trigo, milho ou soja, na respectiva ordem de prioridade, enquanto 2x representa o dobro da dose 1x. Para

cada herbicida, adicionou-se a calda de pulverização o adjuvante específico indicado no respectivo registro de fabricante.

Tabela 5- Mecanismo de ação, nome comercial, ingrediente ativo e dose dos herbicidas (g i.a. ha⁻¹) utilizados em pós-emergência de azevém tetraploide cv. INIA Titan[®]. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016.

| Mecanismo de ação | Nome comercial | Ingrediente ativo | Dose g ha ⁻¹ | |
|-------------------|-------------------------|----------------------------------|-------------------------|-------------------|
| | | | 1 X ⁸ | 2X ⁹ |
| Auxínico | DMA 806 BR [®] | 2,4-D | 670 ⁶ | 1340 ⁷ |
| Inib. da Protox | Heat [®] | Saflufenacil ¹ | 24,5 | 49 |
| Inib. da Protox | Aurora [®] | Carfentrazone-ethyl ² | 20 | 40 |
| Inib. do FSII | Basagran [®] | Bentazon ³ | 720 | 1440 |
| Inib. da ALS | Classic [®] | Chlorimuron-ethyl ⁴ | 20 | 40 |
| Inib. da ALS | Pivot [®] | Imazethapyr | 100 | 200 |
| Inib. da ALS | Ally [®] | Metsulfuron-methyl ⁵ | 2 | 4 |

¹ Adicionou-se: Dash[®] (0,5% v/v), ² Nimbus[®] (0,5% v/v), ³ Assist[®] (1 L ha⁻¹), ⁴ Nimbus[®] (0,05% v/v), ⁵ Nimbus[®] (0,1% v/v). ^{6,7} Doses em equivalente ácido. ⁸ 1X, refere-se a menor dose de registro, quando apresenta intervalo, para o controle de buva, nabo e/ou corda-de-viola em trigo, milho e/ou soja, enquanto ⁹ 2X é o dobro da dose anterior.

3.2.2 Experimento II: Controle de azevém tetraploide com herbicidas pós-emergentes

Para o experimento de controle de azevém tetraploide os herbicidas foram aplicados, na data pelo qual aproximadamente 50% das plantas iniciavam o estágio de aplicação desejado (afilhamento pleno, alongamento e florescimento pleno). Os tratamentos foram alocados em esquema parcela subdivididas 5x3. No qual o fator A (parcelas), foi constituído dos estádios de aplicação: aphilhamento pleno, alongamento e florescimento pleno, o B (subparcelas) dos herbicidas (Tabela 6). Adicionou-se adjuvantes a calda de pulverização, conforme as recomendações do respectivo registro dos herbicidas.

Em ambos experimentos I e II a aplicação dos herbicidas foi realizada utilizando-se pulverizador costal de precisão, pressurizado a CO₂, equipado com barra de pulverização, contendo quatro pontas da série AXI 110.15, espaçadas a 50 cm, aspergindo volume de calda de 120 L ha⁻¹ sobre as plantas. A avaliação da fitotoxicidade apresentada pelo azevém tetraploide foi realizada aos 12, 24 e 36 dias após a aplicação dos herbicidas (DAT), já as avaliações de controle foram realizadas aos 10, 20 e 30 DAT.

Tabela 6- Mecanismo de ação, nome comercial, ingrediente ativo e dose dos herbicidas (g i.a. ha⁻¹) utilizados para o controle de azevém tetraploide cv. INIA Titan[®] em três estádios de desenvolvimento. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017.

| Mecanismo de ação | Nome comercial | Ingrediente ativo | Dose g ha ⁻¹ | Estádios ⁵ |
|---------------------|-----------------------|--------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| Inib. da ACCase | Select [®] | Clethodim ¹ | 108,0 | Afilhamento |
| Inib. da ACCase | Verdict [®] | Haloxypop ² | 62,3 | pleno |
| Inib. da EPSPs | Trop [®] | Glyphosate | 960 | Alongamento |
| Inib. da GS | Finale [®] | Glufosinate ³ | 600 | |
| Inib. do FSII + FSI | Gramocil [®] | Diuron + paraquat ⁴ | 400 + 200 | Florescimento pleno |

¹Foi adicionado Alquil éster etoxilado do ácido fosfórico Lanza[®] (1,0% v/v), ² Óleo mineral Assist[®] (0,5% v/v), ³Óleo mineral Nimbus[®] (0,1% v/v), ⁴Éster metílico de óleo de soja Aureo[®] (0,2% v/v). Estádios fenológicos do azevém tetraploide onde se aplicou os herbicidas.

As condições ambientais verificadas no momento da aplicação dos herbicidas, nos experimentos de fitotoxicidade e controle são apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7- Condições atmosféricas no momento da aplicação dos herbicidas nos experimentos de seletividade e controle de azevém tetraploide, cv. INIA Titan[®]. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2016/17.

| Experimento | Luminosidade (%) | Temperatura C° | U.R (%) | Velocidade do vento km h ⁻¹ |
|---------------------|------------------|----------------|---------|--|
| Seletividade | 100 | 24,0 | 73 | 5 |
| Controle 1° estágio | 70 | 24,0 | 70 | 8 |
| Controle 2° estágio | 50 | 23,0 | 70 | 2 |
| Controle 3° estágio | 50 | 22,0 | 75 | 4 |

Para as avaliações dos dois experimentos adotou-se notas visuais de 0 a 100%, onde 0 significa ausência de injúria e 100% a morte das plantas, conforme metodologia proposta pela SBCPD (1995). No experimento de seletividade, aos 36 DAT e o de controle, aos 30 DAT realizou-se o corte das plantas de azevém rente à superfície do solo em área de 0,25 m², a fim de determinar a massa seca da parte aérea (MSPA), onde o material coletado foi acondicionado em sacos de papel devidamente etiquetados, com posterior secagem em estufa de circulação forçada de ar, a 60 ± 5 °C por 72 h. A determinação da MSPA foi efetuada em balança analítica de precisão de 0,01 g.

Os resultados de fitotoxicidade, MSPA e controle foram analisados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk), sendo posteriormente submetidos à análise de

variância pelo teste F ($p \leq 0,05$), havendo significância as médias foram comparados pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

3.3 Resultados e Discussão

Os resultados e discussão serão apresentados de acordo com a sequência das atividades apresentadas no material e métodos.

3.3.1 Experimento I: Seletividade de herbicidas pós-emergentes em azevém tetraploide

Os resultados do teste de normalidade revelaram não haver necessidade de transformação dos dados para fitotoxicidade e MSPA, sendo constatado na análise de variância interação entre os fatores herbicidas e doses, para todas as variáveis avaliadas. Analisando o efeito das doses e a resposta de fitotoxicidade do azevém, verificou-se que dos herbicidas testados, o bentazon foi o mais seletivo, pois, a fitotoxicidade apresentada pelas plantas foi estatisticamente igual a dose zero do herbicida, independente da época de avaliação (Tabela 8). Para carfentrazone-ethyl, em todas as avaliações, e 2,4-D aos 12 DAT, verificou-se que ao dobrar a dose do herbicida (2X a dose), a fitotoxicidade não é alterada, mantendo-se similar à utilização da menor dose de registro (1X a dose).

Para os herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintetase (ALS), o aumento de dose acarreta no aumento de fitotoxicidade, ou seja, maiores são as injúrias ao azevém (Tabela 8). Aos 36 DAT a dose 2X de chlorimuron-ethyl, imazethapyr e metsulfuron-methyl apresentaram aumento de fitotoxicidade de 51, 35 e 72% em comparação a dose 1X, respectivamente.

Para saflufenacil, observou-se aumento de fitotoxicidade em função do aumento de dose, nas avaliações aos 12 e 24 DAT, no entanto, as injúrias foram semelhantes aos 36 DAT na aplicação de 1 ou 2X a dose de registro. Os herbicidas inibidores da enzima protoporfirinogênio oxidase (protox), carfentrazone-ethyl e saflufenacil causaram maior fitotoxicidade nas plantas de azevém tetraploide na avaliação dos 12 DAT, reduzindo o efeito nas demais avaliações, apresentando aos 36 DAT redução de 80% da fitotoxicidade em ambos herbicidas, na maior dose de registro utilizada.

Tabela 8- Fitotoxicidade (%) apresentada pelo azevém tetraploide cv. INIA Titan[®], devido à aplicação de doses e herbicidas, aos 12, 24 e 36 dias após aplicação dos tratamentos (DAT). FAEM/UFPEl, Capão do Leão/RS, 2016.

| Herbicida | Fitotoxicidade (%) 12 DAT | | |
|---------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|
| | Dose | | |
| | 0 | 1x ¹ | 2x ² |
| 2,4 D | 0 a ns | 1,5 c | 2,5 e |
| Saflufenacil | 0 aC | 16,3 bB | 35,0 cA |
| Carfentrazone-ethyl | 0 aB | 11,5 bA | 15,0 dA |
| Bentazon | 0 aA | 2,2 cA | 2,0 eA |
| Chlorimuron-ethyl | 0 aC | 28,3 aB | 45,5 bA |
| Imazethapyr | 0 aC | 33,7 aB | 55,5 aA |
| Metsulfuron-methyl | 0 aC | 13,0 bB | 21,0 dA |
| C.V. (%) | 21,96 | | |
| Herbicida | Fitotoxicidade (%) 24 DAT | | |
| | Dose | | |
| | 0 | 1x ¹ | 2x ² |
| 2,4 D | 0 aC | 6,2 cdB | 9,7 dA |
| Saflufenacil | 0 aC | 6,5 cdB | 11,0 dA |
| Carfentrazone-ethyl | 0 aB | 3,7 deA | 5,2 eA |
| Bentazon | 0 a ns | 1,7 e | 2,2 e |
| Chlorimuron-ethyl | 0 aC | 18,5 bB | 35,5 bA |
| Imazethapyr | 0 aC | 53,5 aB | 71,5 aA |
| Metsulfuron-methyl | 0 aC | 9,5 cB | 21,3 cA |
| C.V. (%) | 14,18 | | |
| Herbicida | Fitotoxicidade (%) 36 DAT | | |
| | Dose | | |
| | 0 | 1x ¹ | 2x ² |
| 2,4 D | 0 aC | 6,5 cB | 11,0 dA |
| Saflufenacil | 0 aB | 5,5 cdA | 7,7 dA |
| Carfentrazone-ethyl | 0 a ns | 2,3 d | 3,0 e |
| Bentazon | 0 a ns | 1,7 d | 2,0 e |
| Chlorimuron-ethyl | 0 aC | 17,5 bB | 35,7 bA |
| Imazethapyr | 0 aC | 54,2 aB | 83,7 aA |
| Metsulfuron-methyl | 0 aC | 8,7 cB | 21,2 cA |
| C.V. (%) | 14,68 | | |

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna, comparando cada dose dentro dos herbicidas, e maiúsculas na linha comparando as doses dentro de cada herbicida, não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ^{ns} Não significativo. ¹1X, refere-se a menor dose de registro, quando apresenta intervalo, para o controle de buva, nabo e/ou corda-de-viola em trigo, milho e/ou soja, enquanto ²2X é o dobro da dose 1X.

Efeitos semelhantes foram observados em aplicação em pós-emergência da aveia branca, em que, os efeitos fitotóxicos de saflufenacil, diminuíram com o desenvolvimento da cultura, sem prejudicar a produtividade (SIKKEMA; SHROPSHIRE; SOLTANI, 2008). Ressalta-se que esse herbicida apresentou potencial para controle de plantas daninhas dicotiledôneas durante o inverno, e seletividade para culturas gramíneas de inverno, incluindo azevém, sendo alternativa para rotação de mecanismos de ação, visando reduzir a pressão de seleção para

resistência de inibidores da ALS e auxínicos, que são os principais mecanismos de ação utilizados para esse fim.

As plantas de azevém tratadas com 2,4-D aumentaram a alongação de colmos e epinastia de folhas com o decorrer das avaliações. No entanto, todos valores de fitotoxicidade foram inferiores a 12%, demonstrando que o herbicida apresenta seletividade para azevém tetraploide, independente da dose utilizada. Analisando a MSPA, verificou-se que o tratamento com 2,4-D proporcionou aumento de MSPA em 12 e 25%, nas dose 1X e 2X, respectivamente, em comparação a ausência de herbicida (Tabela 9).

Tabela 9- Massa seca ($t\ ha^{-1}$) do azevém tetraploide cv. INIA Titan[®], aos 36 dias após aplicação dos tratamentos (DAT), devido aplicação de diferentes doses e herbicidas. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2016.

| Herbicida | Massa seca ($t\ ha^{-1}$) 38 DAT | | |
|---------------------|------------------------------------|-----------------|-----------------|
| | Dose | | |
| | 0 | 1x ¹ | 2x ² |
| 2,4-D | 3,95 aB | 4,44 aAB | 4,95 aA |
| Saflufenacil | 3,95 aA | 4,05 aA | 4,00 bA |
| Carfentrazone-ethyl | 3,95 aA | 4,12 abA | 4,12 abA |
| Bentazon | 3,95 aA | 4,40 aA | 4,46 abA |
| Chlorimuron-ethyl | 3,95 aA | 3,65 abA | 2,77 cB |
| Imazethapyr | 3,95 aA | 2,19 cB | 1,33 dC |
| Metsulfuron-methyl | 3,95 aA | 3,30 bAB | 2,98 cB |
| C.V. (%) | 11,76 | | |

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna, comparando cada dose dentro dos herbicidas, e maiúsculas na linha comparando as doses dentro de cada herbicida, não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ¹1X, refere-se a menor dose de registro, quando apresenta intervalo, para o controle de buva, nabo e/ou corda-de-viola em trigo, milho e/ou soja, enquanto ²2X é o dobro da dose 1X.

A seletividade de 2,4-D em poaceas é baseada na baixa absorção e translocação limitada no floema, devido às estruturas anatômicas que facilitam a degradação do herbicida (MCSTEEN, 2010). Porém, a pequena proporção do produto aplicado, que é absorvida e translocada, são suficientes para induzir a alongação celular e expressão gênica de compostos responsáveis pelo crescimento e defesa das plantas (MCSTEEN, 2010; GROSSMANN, 2010; HAN et al., 2013), promovendo desta forma, alongação e maior acúmulo de massa seca de gramíneas tratadas com o herbicida.

Os herbicidas saflufenacil, carfentrazone-ethyl e bentazon, demonstraram serem seguros para aplicação no estágio de afilhamento do azevém tetraploide, sem

comprometer o acúmulo de MSPA, que foi similar a testemunha sem aplicação de herbicida (Tabelas 8 e 9). Para *Lolium perene*, também se verificou que bentazon 400 g ha⁻¹, mesmo em mistura com dicamba 112,5 g ha⁻¹, não apresentaram danos aparentes à cultura (DIMITROVA; KATOVA, 2011). O mecanismo de seletividade de bentazon, envolve superexpressão de enzimas com atividade antioxidante, que atuam na eliminação de radicais livres provindos a partir da formação de clorofila no estado tripleto, devido a inibição da transferência de elétrons entre a proteína D1 e a plastoquinona, bem como, a degradação do herbicida, que inicia por hidroxilação mediada por citocromo P450, com posterior conjugação com glicose e formação de compostos atóxicos, em arroz (FANG et al., 2015).

O imazethapyr apresentou elevada fitotoxicidade, acima de 50% independente da dose utilizada, aos 36 DAT (Tabela 8). A elevada injúria comprometeu o acúmulo de MSPA, reduzindo em 44 e 66 % devido a aplicação do herbicida em 1 e 2X a dose de registro, respectivamente (Tabela 9). Resultados similares foram encontrados em aveia branca, aveia comum e azevém, em que o herbicida não foi seletivo as culturas e comprometeu o acúmulo de MSPA (DALAZEN et al., 2015).

A detoxificação de herbicidas do grupo químico das sulfonilureias é dependente do estágio de aplicação, estado nutricional das plantas, condições ambientais, bem como outros fatores nos quais incluem a dose do herbicida utilizada (DALAZEN et al., 2015). Na dose 1X, ambos herbicidas, chlorimuron-ethyl e metsulfuron-methyl, apresentaram fitotoxicidade inferior a 18%, sem reduzir o acúmulo de MSPA, enquanto que a dose 2X as injúrias foram superiores a 20%, comprometendo o acúmulo de massa seca pelo azevém tetraploide, em 25 e 30%, para metsulfuron-methyl e chlorimuron-ethyl, respectivamente (Tabelas 8 e 9). A metabolização destes herbicidas é mediada por monooxigenação de enzimas P450 e GST por conjugação (CARVALHO et al., 2009), sendo que, com aumento de dose, somente parte do herbicida é metabolizada, estando outra parte disponível para inibir a enzima ALS e causar injúrias a cultura.

3.3.2 Experimento II: Controle de azevém tetraploide com herbicidas pós-emergentes

Em relação ao controle de azevém tetraploide com herbicidas em diferentes estádios da cultura, verificou-se não haver necessidade de transformação dos dados com base nos testes de normalidade, sendo constatado na análise de variância interação entre os fatores herbicidas e estádios de aplicação, para todas as variáveis avaliadas. Os herbicidas inibidores da ACCase, clethodim e haloxyfop demonstraram as menores percentagens de controle de azevém tetraploide em comparação aos demais herbicidas, na avaliação realizada aos 10 DAT, independente do estágio de aplicação (Tabela 10). Esses herbicidas apresentam efeito lento para levar a morte completa de gramíneas, por uma série de fatores, nos quais incluem absorção, translocação e o próprio mecanismo de ação destes herbicidas.

Herbicidas inibidores da ACCase apresentam absorção lenta pelas folhas, aliada à baixa translocação para os demais tecidos, no qual é dependente do fluxo de fotoassimilados via floema (NANDULA et al., 2007; CRUZ-HIPOLITO et al., 2011; KUKORELLI; REISINGER; PINKE, 2013). A inibição da enzima ACCase é reversível, no entanto quando inibida, interrompe a biossíntese de ácidos graxos, assim inicialmente ocorre a necrose da região meristemática, sendo que a morte dos demais tecidos é lenta e desencadeada principalmente devido a alteração dos potenciais eletroquímicos da membrana plasmática (DOTRAY et al., 1993; KUKORELLI; REISINGER; PINKE, 2013).

Aos 30 DAT, clethodim e haloxyfop apresentaram controle satisfatório, acima de 89% em todos os estádios de aplicação (Tabela 10). No entanto, a mistura em tanque de herbicidas inibidores da ACCase com glyphosate, pode ser uma alternativa para melhorar e promover o controle de gramíneas mais rapidamente, inclusive daquelas resistentes ao glyphosate (BARROSO et al., 2014). Ressalta-se, que no sistema de cultivo de semeadura direta, o rápido controle é um efeito desejado para os herbicidas usados em dessecção, pois aceleram os processos biológicos envolvidos na degradação do material vegetal, possibilitando antecipar a semeadura da cultura adotada em sucessão, sem comprometer a produtividade (CONSTANTIN et al., 2009).

Tabela 10- Controle (%) de azevém tetraploide cv. INIA Titan[®], apresentado aos 10, 20 e 30 dias após aplicação dos tratamentos (DAT), em função do uso de herbicidas em diferentes estádios de desenvolvimento. FAEM/UFPEl, Capão do Leão/RS, 2017.

| Herbicida | Controle (%) 10 DAT | | |
|-------------------|----------------------|-------------|---------------|
| | Estádio de aplicação | | |
| | Afilhamento | Alongamento | Florescimento |
| Clethodim | 39 dB | 58 cdA | 42 cB |
| Haloxifop | 48 cAB | 55 dA | 38 cB |
| Glyphosate | 65 bB | 65 bcB | 88 aA |
| Glufosinate | 74 b ns | 71 b | 68 b |
| Diuron + paraquat | 94 aA | 86 aC | 90 aB |
| Testemunha | 0 e ns | 0 e | 0 d |
| C.V. (%) | 9,45 | | |
| Herbicida | Controle (%) 20 DAT | | |
| | Estádio de aplicação | | |
| | Afilhamento | Alongamento | Florescimento |
| Clethodim | 80 cA | 71 cB | 76 cAB |
| Haloxifop | 89 bA | 72 cB | 72 cB |
| Glyphosate | 97 aA | 84 bB | 99 aA |
| Glufosinate | 71 dB | 63 dB | 85 bA |
| Diuron + paraquat | 97 aA | 92 aB | 94 aAB |
| Testemunha | 0 eA | 0 eA | 0 dA |
| C.V. (%) | 4,60 | | |
| Herbicida | Controle (%) 30 DAT | | |
| | Estádio de aplicação | | |
| | Afilhamento | Alongamento | Florescimento |
| Clethodim | 91 b ns | 95 a | 90 b |
| Haloxifop | 98 aA | 96 aA | 89 bB |
| Glyphosate | 99 a ns | 98 a | 99 a |
| Glufosinate | 42 cB | 35 cC | 91 bA |
| Diuron + paraquat | 94 abA | 89 bB | 97 aA |
| Testemunha | 0 d ns | 0 d | 0 c |
| C.V. (%) | 3,13 | | |

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna, comparando cada estágio dentro dos herbicidas, e maiúsculas na linha comparando os estádios dentro de cada herbicida, não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ^{ns} Não significativo.

O herbicida glyphosate demonstrou controle acima de 65% na avaliação aos 10 DAT, independente do estágio de aplicação (Tabela 10). Com o decorrer das avaliações melhores percentagens de controle foram observadas, sendo superiores a 98% em todos os estádios de aplicação aos 30 DAT. Apesar de estudos demonstrarem que o fator de tolerância diferencial entre genótipos, foi de 1,6 vez a dose de glyphosate no genótipo tetraploide em relação ao diploide (DORS et al., 2010), o azevém tetraploide aparece como uma alternativa para reduzir a disseminação da resistência de azevém diploide, visto que neste trabalho a dose de registro controlou adequadamente o genótipo tetraploide. Plantas poliploides apresentam maior expressão gênica de substâncias responsáveis pelo crescimento

e desenvolvimento celular, em comparação com genótipos de menor quantidade de cópias do genoma (ZHOU et al., 2015), logo a maior expressão de enzimas alvo de herbicidas, pode ser a explicação da maior tolerância de genótipos com maior quantidade de cópias do genoma.

Os herbicidas de contato, diuron + paraquat e glufosinate, apresentaram rápido efeito no controle de azevém tetraploide (Tabela 10). O diuron + paraquat, manteve controle satisfatório acima de 86%, independente da época de avaliação e estágio de aplicação, porém melhores índices de controle aos 30 DAT foram observados quando o herbicida foi aplicado no estágio de afilhamento e florescimento. Já o glufosinate, reduziu a percentagem de controle com o decorrer das avaliações nos estádios de afilhamento e alongamento, apresentando controle insuficiente, abaixo de 42% aos 30 DAT, em ambos estádios de aplicação. Por outro lado, no estágio de florescimento, resultado oposto foi observado, com o decorrer das avaliações melhoraram os índices de controle, sendo considerado satisfatório aos 30 DAT.

Resultados similares foram observados com o herbicida glufosinate em azevém diploide, onde aplicação realizada no afilhamento (SCHNEIDER; VARGAS; AGOSTINETTO, 2015) e no estágio de alongamento das plantas, o controle ao final das avaliações foi considerado insatisfatório (VARGAS et al., 2004). Assim verifica-se que o herbicida naturalmente apresenta controle inadequado da espécie, sendo que o controle satisfatório obtido no estágio de florescimento pleno provavelmente deve-se a combinação entre herbicida e a senescência das plantas de azevém.

Todos herbicidas testados reduziram o acúmulo de MSPA em comparação à testemunha, em todos os estádios de aplicação (Tabela 11). Os resultados de MSPA corroboram com os de controle, em que, glyphosate, diuron + paraquat, haloxyfop e clethodim foram mais eficientes no estágio de afilhamento e alongamento, já no estágio de florescimento todos herbicidas testados foram eficientes, no entanto diuron + paraquat e glyphosate foram mais eficientes na redução do acúmulo de MSPA.

Tabela 11- Massa seca ($t\ ha^{-1}$) acumulada pelo azevém tetraploide cv. INIA Titan[®], aos 30 dias após aplicação dos tratamentos (DAT), devido ao uso de herbicidas em diferentes estádios de desenvolvimento. FAEM/UFPeL, Capão do Leão/RS, 2017.

| Herbicida | Massa seca ($t\ ha^{-1}$) 30 DAT | | |
|-------------------|------------------------------------|-------------|---------------|
| | Estádio de aplicação | | |
| | Afilhamento | Alongamento | Florescimento |
| Clethodim | 0,18 cC | 2,04 cB | 5,98 bA |
| Haloxypop | 0,07 dC | 2,04 cB | 6,07 bA |
| Glyphosate | 0,02 dC | 1,32 dB | 5,24 cA |
| Glufosinate | 0,79 bC | 3,05 bB | 5,69 bcA |
| Diuron + paraquat | 0,08 dC | 1,18 dB | 4,40 dA |
| Testemunha | 1,94 aC | 5,43 aB | 8,68 aA |
| C.V. (%) | 6,71 | | |

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna, comparando cada estágio dentro dos herbicidas, e maiúsculas na linha comparando os estádios dentro de cada herbicida, não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

3.4 Conclusões

Os herbicidas bentazon, 2,4-D, saflufenacil e carfentrazone-ethyl foram seletivos ao azevém tetraploide independente da dose utilizada. Chlorimuron-ethyl e metsulfuron-methyl, na menor dose testada, foram seletivos a cultura, sendo que o aumento da dose acarreta em maiores injúrias. Imazethapyr não apresenta seletividade ao azevém tetraploide, independente da dose.

Os herbicidas glyphosate ou diuron + paraquat, apresentaram rápido controle das plantas, independente do estágio de aplicação. Nos estádios de alongamento e florescimento, clethodim e haloxypop apresentam efeito lento, com controle satisfatório, somente aos 30 DAT. O glufosinate apresentou controle insatisfatório nos estádios de afilhamento e alongamento, no entanto adequado quanto pulverizado no estágio de florescimento das plantas de azevém.

4. CAPÍTULO III – Longevidade de sementes de genótipos de azevém em função da profundidade e tempo de enterrio.

4.1 Introdução

A dormência é a condição intrínseca da semente que impede a germinação sob condições ambientais desfavoráveis (NARWAL; SINDEL; JESSOP, 2008). Do ponto de vista evolutivo, a dormência é considerada importante estratégia para prolongar a longevidade das sementes e evitar a germinação e emergência em períodos onde as condições de umidade e temperatura do solo, disponibilidade de oxigênio e luminosidade não são as mais favoráveis para o desenvolvimento da espécie (GARDARIN; COLBACH, 2014).

As sementes de angiospermas ortodoxas podem apresentar dormência classificada como fisiológica, morfológica, morfofisiológica, física, ou a combinação de duas dormências (BASKIN; BASKIN, 2004). Dentre as causas fisiológicas, sementes recentemente amadurecidas apresentam dormência primária, quando esta se desenvolve durante a maturação da semente na planta mãe, por outro lado, se as sementes não são dormentes após a desconexão com a planta mãe e entram em dormência por algum outro fator, e tido como dormência secundária (BASKIN; BASKIN, 2004; FENNER; THOMPSON, 2005). Já, sementes não dormentes que não germinam devido à ausência de um ou mais fatores ambientais (Ex: umidade, luz, temperatura) são caracterizadas como quiescentes, em latência forçada ou pseudodormência (BASKIN; BASKIN, 2004).

O banco de sementes de plantas daninhas do solo é uma preocupação constante para os agricultores (BUHLER; HARTZLER; FORCELLA, 1997). As características intrínsecas de cada espécie e o manejo afetam a persistência das sementes no solo, pois influencia na distribuição vertical e horizontal dos propágulos

no perfil de solo que dispõe de microambiente com diferentes condições bióticas e abióticas, favoráveis ou não para sobrevivência (LUTMAN et al., 2002; CHAUHAN; GILL; PRESTON, 2006). Também, ressalta-se que as plantas daninhas anuais, de reprodução sexuada, possuem germinação escalonada, com flutuações populacionais, reguladas pelo ambiente e pelas características endógenas e exógenas da semente (YAMASHITA; GUIMARÃES, 2010).

O sucesso das espécies daninhas anuais em sistemas de cultivo pode ser avaliado através do grau de sincronização da germinação (determinado por fatores que controlam a saída da dormência; da capacidade da espécie germinar em altas taxas (determinado pela resposta da semente a fatores ambientais, principalmente a temperatura); e da longevidade (determinada pelo genótipo em resposta aos fatores ambientais que promovem a deterioração) (GUNDEL; MARTÍNEZ-GHERSA; GHERSA, 2008).

A longevidade das sementes determina tanto o número de sementes potencialmente emergentes, quanto à frequência de aparecimento da espécie no sistema de cultivo agrícola (GARDARIN; COLBACH, 2014). Para o azevém, o conhecimento desses efeitos pode ser utilizado para desenvolver sistemas de manejo integrado, utilizados tanto para reduzir o uso de herbicidas e manejar as plantas resistentes, quanto para prever a população da espécie forrageira quando se utiliza sistemas de integração lavoura-pecuária.

No Sul do Brasil, é comum a sucessão de cultivos de verão, especialmente da soja, com pastagem de inverno, normalmente composta de azevém, oriundo de ressemeadura natural (CUNHA et al., 2016). Essa técnica é amplamente utilizada pelos agricultores para reabastecimento de azevém no banco de sementes do solo, e permite a formação da pastagem no inverno seguinte, com custos reduzidos. No entanto, dificuldades de controle da espécie são observadas, quando empregado à rotação com cereais de inverno e canola, sendo observadas perdas na produtividade na ausência de controle (ROMAN et al., 2004). Assim, mesmo sendo considerada uma excelente forrageira, o azevém também é uma das plantas daninhas de importância em culturas de inverno.

Atualmente, além da ressemeadura natural e cultivares diploides, têm-se verificado maior adoção de cultivares tetraploides para compor os sistemas de cultivo. Em azevém, a poliploidia proporciona mudanças nas características morfofisiológicas conferindo aos genótipos rápido desenvolvimento inicial e elevada

produção de massa seca, maior conteúdo proteico, aliado ao período vegetativo mais longo quando comparado a plantas diploides (RAMAKRISHNAN, 2004). Porém, pouco se sabe sobre a dormência e a capacidade de sementes de azevém tetraploide ocuparem o banco de sementes do solo.

A intensa domesticação e os trabalhos de melhoramento genético vegetal procuram remover os mecanismos de dormência das sementes, sendo esta principalmente determinada por fatores genéticos, com certa plasticidade na expressão genotípica pela influência do ambiente (MARCOS FILHO, 2005). No entanto, sob condições ambientais menos favoráveis a dormência pode se manifestar, mesmo em espécies cultivadas (MARCOS FILHO, 2005), como o caso de azevém tetraploide, pois após as sementes caírem sobre o solo, a sobrevivência vai depender das características intrínsecas, relacionada aos componentes endógenos e, extrínsecas relacionadas ao ambiente no qual foram expostas.

A hipótese deste trabalho foi que as sementes de azevém enterradas em maiores profundidades apresentam maior longevidade, independentemente do nível de ploidia. Portanto, o objetivo do trabalho foi determinar a longevidade de sementes dos genótipos de azevém diploide e tetraploide (*L. multiflorum*) expostas a diferentes profundidades e tempo de enterrio.

4.2 Material e Métodos

Foram conduzidos dois experimentos a campo a fim de avaliar a longevidade do azevém diploide e tetraploide, na área experimental do Centro Agropecuário da Palma (CAP/UFPel), em Capão do Leão, RS (31°48'30" S, 52°30'14,5" W) entre os meses de janeiro a outubro de 2017. A qualidade fisiológica das sementes foi determinada através de avaliações realizadas em Laboratório Didático de Análise de Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPel.

As sementes de azevém tetraploide utilizadas no experimento corresponderam à geração F₂ da cultivar INIA TITAN[®], enquanto que as sementes diploides foram obtidas de plantas presentes na área experimental oriundas da ressemeadura natural. Para os ambos genótipos, as sementes foram coletadas em 20 de dezembro de 2016, a partir da seleção de espigas logo após o estágio de maturação fisiológica. Antes do enterrio, as sementes cheias foram selecionadas

manualmente com a utilização de diafanoscópio e a viabilidade foi confirmada através do teste de tetrazólio a 1% (BRASIL, 2009).

4.2.1 Experimento I: Longevidade de azevém diploide

Para avaliar a longevidade de azevém diploide os tratamentos foram dispostos em delineamento experimental completamente casualizado com quatro repetições, arranjados em esquema fatorial (3x6). O fator A correspondeu a três profundidades de enterrio das sementes (0,0; 2,5 e 5,0 cm) e, o fator B compreendeu cinco épocas de coleta/resgate (0, 1, 2, 4 e 8 meses). Cada unidade experimental foi composta por saco de malha de nylon (10 x 10 cm), contendo 50 sementes distribuídas em 50 g de solo, classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo de textura franco-arenosa, pertencente à unidade de mapeamento de Pelotas (EMBRAPA, 2013), coletado diretamente da área experimental onde foi instalado o experimento.

Os sacos foram alocados no centro das entrelinhas da soja, semeadas no mesmo dia da implantação do experimento (04/01/2017), sendo que a camada de solo removida, para cada profundidade de enterrio foi colocada de volta na sua condição original, exceto para os tratamentos correspondentes a ausência de enterrio (0,0 cm). A cultura foi mantida na ausência de plantas daninhas, durante todo seu ciclo, através de aplicações de glyphosate, sendo que os demais tratamentos culturais foram realizados de acordo com as recomendações técnicas do cultivo de soja (EMBRAPA, 2014). Após a colheita da soja, a área foi mantida sob ausência de cultivos, condição idêntica de quando se realiza ressemeadura natural de azevém.

A recuperação das sementes dos sacos foi realizada através da disposição da amostra em peneira de 32 mesh e lavagem em água corrente. Após a lavagem, a amostra permaneceu sob papel filtro durante 24 horas e, as sementes remanescentes, foram retiradas manualmente do papel filtro e, lavadas novamente com água destilada a fim de remover resíduos de solo.

As sementes remanescentes foram submetidas ao teste de germinação sobre papel mataborrão, acondicionado em caixas tipo gerbox, umedecido com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa. Os gerbox foram mantidos em BOD, em temperatura alternada de 20°C/noite e 30°C/dia e fotoperíodo de oito horas/dia conforme as regras para análises de sementes (RAS) (BRASIL,

2009). Foi contabilizada a primeira contagem de germinação aos cinco dias após a semeadura (DAS), já aos 14 DAS foi avaliado a germinação, as plântulas anormais; sementes mortas; e, dormentes. Após a finalização do teste de germinação verificou-se a viabilidade das sementes dormentes pelo teste de tetrazólio (sal 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio a 1,0 %). Desta forma, as sementes não germinadas aos 14 DAS, foram colocadas em solução de tetrazólio, em recipiente de vidro transparente e fechado com papel alumínio para evitar a entrada de luz, por 24 horas e temperatura de $\pm 30^{\circ}$ C. Assim, foram consideradas viáveis aquelas sementes que apresentassem embrião completamente colorido, nas tonalidades rosa ou carmim (BRASIL, 2009).

Ao final de cada teste de germinação, foram obtidas as seguintes variáveis: sementes remanescentes; primeira contagem de germinação, germinação, plântulas anormais, mortalidade e dormência. A variável mortalidade representa o somatório de sementes mortas e inviáveis nos testes de germinação e tetrazólio, respectivamente, enquanto que a variável sementes dormentes representa as sementes viáveis encontradas no teste de tetrazólio. Todas as variáveis foram expressas percentualmente em relação ao número de sementes inicialmente enterradas no solo, sendo que os testes de germinação e tetrazólio foram utilizados apenas como ferramentas, para caracterizar quantitativamente e qualitativamente o estado das sementes recuperadas.

Os dados foram analisados quanto à normalidade e, posteriormente, submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Em caso de interação, ou efeito simples do fator meses após de enterrio, os dados foram submetidos análise de regressão com auxílio do programa SigmaPlot 12.3.

Para as variáveis sementes remanescentes, plântulas anormais e sementes dormentes, os dados se ajustaram à equação de regressão do tipo exponencial decrescente:

$$y = y_0 + a * e^{(-b * x)}$$

onde: y = variável resposta de interesse; x = épocas de coleta; e = função exponencial; y_0 = é o intercepto (valor da resposta para $x = 0$); a = diferença entre os pontos máximo e mínimo da variável e b = declividade da curva.

Nas variáveis primeira contagem de germinação, germinação e mortalidade os dados se ajustaram a equação de regressão, do tipo distribuição de Gauss:

$$y = a * e^{(-0,5 * ((x-x_0)/b)^2)}$$

onde: y = variável resposta de interesse; x = são as épocas de coleta; a = representa a diferença entre os pontos máximo e mínimo da variável; b = declividade da curva; e , x_0 = ponto máximo da variável.

4.2.2 Experimento II: Longevidade de azevém tetraploide

O experimento de longevidade do azevém tetraploide foi conduzido e analisado nas mesmas condições do experimento de longevidade de azevém diploide. Todavia, as variáveis analisadas apresentaram comportamento diferente ao azevém diploide, assim os modelos utilizados para cada variável são descritos a seguir.

Para as variáveis sementes remanescentes, primeira contagem de germinação, germinação e sementes dormentes, os dados se ajustaram à equação de regressão do tipo exponencial decrescente:

$$y = y_0 + a \cdot e^{(-b \cdot x)}$$

onde: y = variável resposta de interesse; x = épocas de coleta; e = função exponencial; y_0 = é o intercepto (valor da resposta para $x = 0$); a = diferença entre os pontos máximo e mínimo da variável e b = declividade da curva.

Para a variável plântulas anormais os dados se ajustaram a equação de regressão, do tipo distribuição de Gauss:

$$y = a \cdot e^{(-0,5 \cdot ((x-x_0)/b)^2)}$$

onde: y = variável resposta de interesse; x = são as épocas de coleta; a = representa a diferença entre os pontos máximo e mínimo da variável; b = declividade da curva; e , x_0 = ponto máximo da variável.

Os dados de mortalidade não se ajustaram aos modelos testados.

4.3 Resultados e Discussão

Os resultados e discussão serão apresentados de acordo com a sequência das atividades apresentadas em material e métodos.

4.3.1 Experimento I: Longevidade de azevém diploide

A análise dos dados demonstrou interação entre os fatores estudados para as variáveis sementes remanescentes, primeira contagem de germinação, germinação e sementes dormentes; e para a variável plântulas anormais, observou-se efeito simples do fator tempo de enterrio.

Para a variável sementes remanescentes, verificou-se redução da porcentagem de sementes resgatadas quando se prolongou a época de coleta, independente da profundidade de enterrio, sendo que os dados se ajustaram à equação de regressão exponencial decrescente (Figura 12). Observou-se comportamento diferenciado entre as profundidades de enterrio em relação à porcentagem de sementes remanescentes. Ao analisar o parâmetro b da equação, que indica a declividade da curva, verificou-se que na profundidade de zero cm a declividade da curva foi 53% e 64% superior comparado às profundidades de 2,5 e 5 cm, respectivamente, demonstrando que a manutenção das sementes na superfície do solo proporcionou maior perda ou saída do banco de sementes.

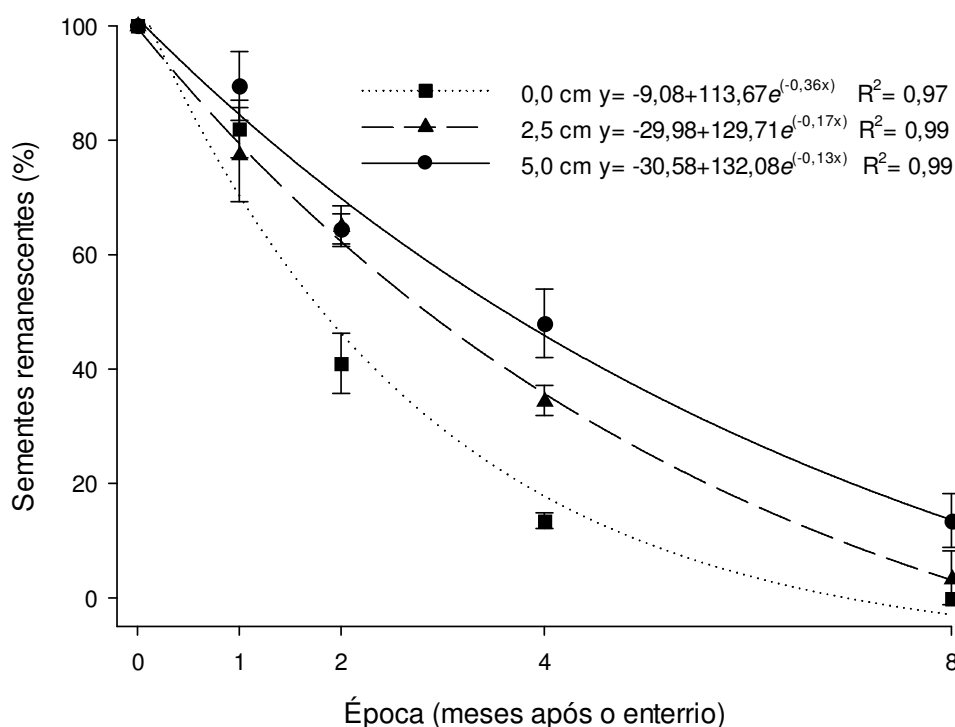


Figura 12- Sementes remanescentes (%) de azevém diploide, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada profundidade em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança de 95% de probabilidade.

O banco de sementes no solo pode sofrer alterações consideráveis, na dinâmica, proporção e quantidade de sementes ao longo do tempo (MAIN et al., 2006). As perdas ocorrem devido à germinação, migração e degradação/predação por microrganismos e invertebrados (FENNER; THOMPSON, 2005; CHEE-SANFORD et al., 2006; RADOSEVICH; HOLT; GHERSA, 2007). Sementes dispostas sobre a superfície do solo estão constantemente expostas a alterações das condições e recursos ambientais, sendo a temperatura, associada à umidade do solo as mais importantes, podendo desencadear a germinação das sementes ou sua rápida deterioração (MAIN et al., 2006).

A partir do quarto mês após o enterrio verificou-se redução mais acentuada na percentagem de sementes recuperadas, nas profundidades de 0,0 e 2,5 cm (Figura 12). Provavelmente grande parte dessas sementes germinou no campo, deixando de ocupar o banco de sementes, em razão que a partir de maio as condições ambientais são mais adequadas para germinação de azevém. Após oito meses na profundidade de 5,0 cm recuperou-se 18% de sementes, do montante inicial enterrado, enquanto na profundidade de 0,0 cm não foram encontradas sementes. Profundidades de enterrio iguais ou superiores a 5 cm reduzem drasticamente a emergência de azevém (CHAUHAN; GILL; PRESTON, 2006), logo, as sementes podem permanecer no banco por período mais longo.

Em relação à primeira contagem de germinação, verificou-se que os dados se ajustaram a equação de regressão de distribuição normal de Gauss (Figura 13). De acordo com o parâmetro x_0 , pode-se verificar que as máximas porcentagens de germinação foram atingidas aos 1,36; 2,31; e 2,43 meses após o enterrio, para as profundidades 0,0; 2,5 e 5,0 cm, respectivamente.

Quando mais superficial a disposição das sementes no solo, menor é o tempo necessário para atingir a máxima germinação. A constante alteração de temperatura e umidade nas camadas mais superficiais do solo favorece a rápida superação da dormência primária, estratégia utilizada pelas sementes para aumentar sua longevidade (DAVIS et al., 2008).

Ressalta-se que os resultados de germinação (Figuras 13 e 14) se referem às condições de laboratório, sob temperatura e umidade ótimas. Desta forma, essas sementes no campo apresentavam todas as características endógenas adequadas para germinar, no entanto não germinavam por alguma condição externa

inadequada, e, permaneciam sob o estado de quiescência no banco de sementes do solo.

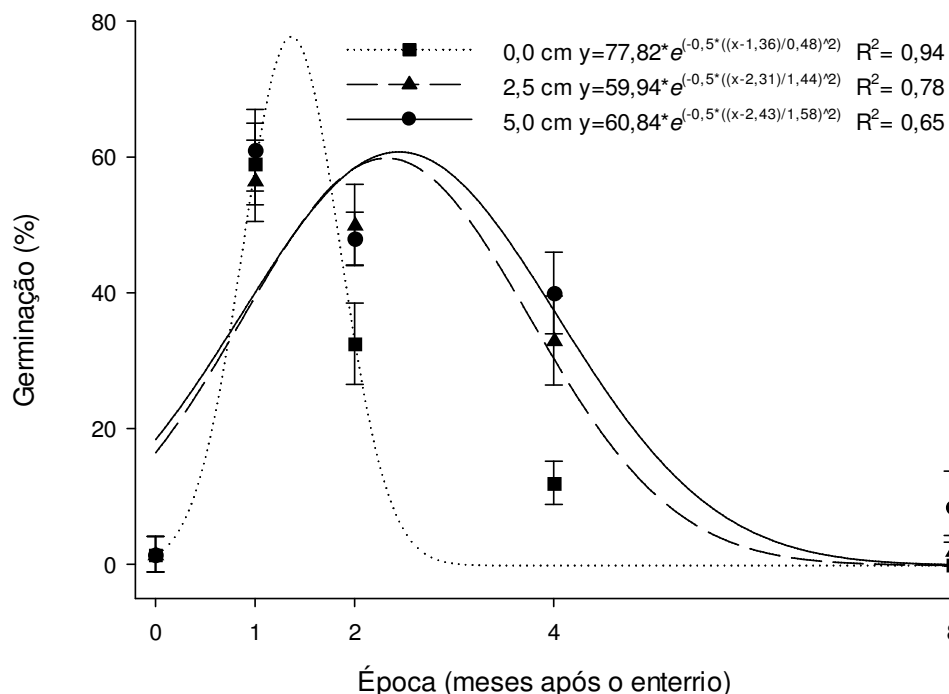


Figura 13- Primeira contagem de germinação (%) de azevém diploide aos cinco dias após a semeadura do teste de germinação, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada profundidade em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança de 95% de probabilidade.

Analisando a germinação aos 14 DAS, observaram-se resultados similares aos apresentados aos cinco dias (Figura 14). Houve aumento da porcentagem de germinação nos primeiros meses após o enterrio, atingindo valores máximos, e decrescendo a partir do quarto mês, sendo que os dados também se ajustaram à distribuição normal de Gauss.

Diferenças marcantes foram verificadas entre ausência de enterrio, e as profundidades 2,5 e 5,0 cm (Figura 14). Ao analisar a declividade da curva (parâmetro b), verifica-se declividade 57% superior na profundidade de 0,0 cm e, apenas 10% em 2,5 cm quando comparadas a 5 cm. O enterrio é uma importante estratégia para aumentar a longevidade do banco de sementes (DAVIS et al., 2008), no entanto para sementes que não conseguem emergir na profundidade na qual estão alocadas no solo, poderão gastar todas suas reservas pela respiração e morrer, se não forem expostas a camadas superficiais, favoráveis para emergência.

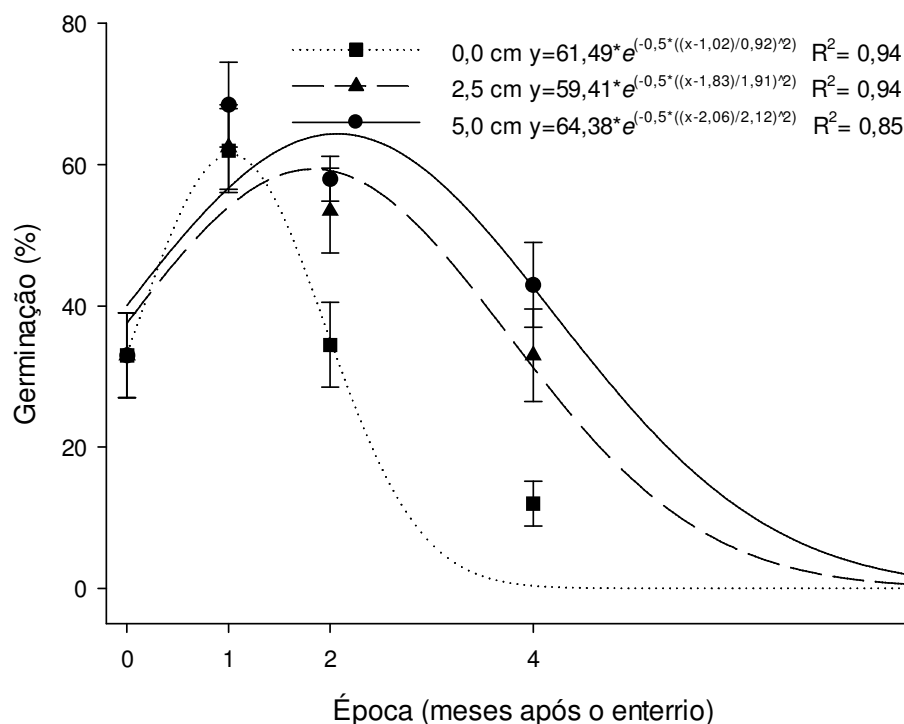


Figura 14- Germinação (%) de azevém diploide aos 14 dias após a semeadura do teste de germinação, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada profundidade em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança de 95% de probabilidade.

A emergência de *Lolium rigidum* foi de duas a quatro vezes maior, sob o sistema de preparo mínimo do solo, do que em comparação ao plantio direto (CHAUHAN; GILL; PRESTON, 2006). No entanto, a degradação das sementes de uma estação para outra, foi muito maior em plantio direto (48 a 60%) do que no preparo mínimo do solo (12 a 39%), devido principalmente à disposição das sementes no solo, entre os diferentes sistemas de cultivo (CHAUHAN; GILL; PRESTON, 2006).

Com referência as plântulas anormais, os dados se ajustaram a equação de regressão exponencial decrescente (Figura 15). Não se verificou diferença entre as profundidades, sendo que a maior percentagem de plântulas anormais (6%) foi observada antes do enterrio das sementes, porém no decorrer dos meses, os valores observados tenderam a reduzir.

As sementes que formavam plântulas anormais e/ou possuíam baixo vigor, ao serem enterradas, apresentaram baixa longevidade e foram degradadas/deterioradas ou morreram logo após o enterrio (Figura 16). Sementes

que originam plântulas anormais apresentam menor longevidade, com tendência de permanecer por menor tempo no banco de sementes (BARTH NETO et al., 2014). Conseqüentemente, os dados de mortalidade se ajustaram à distribuição normal de Gauss, onde as máximas porcentagens de mortalidade foram atingidas aos 0,73; 1,21; e 0,85 meses após o enterrio, para as profundidades 0,0; 2,5 e 5,0 cm, respectivamente.

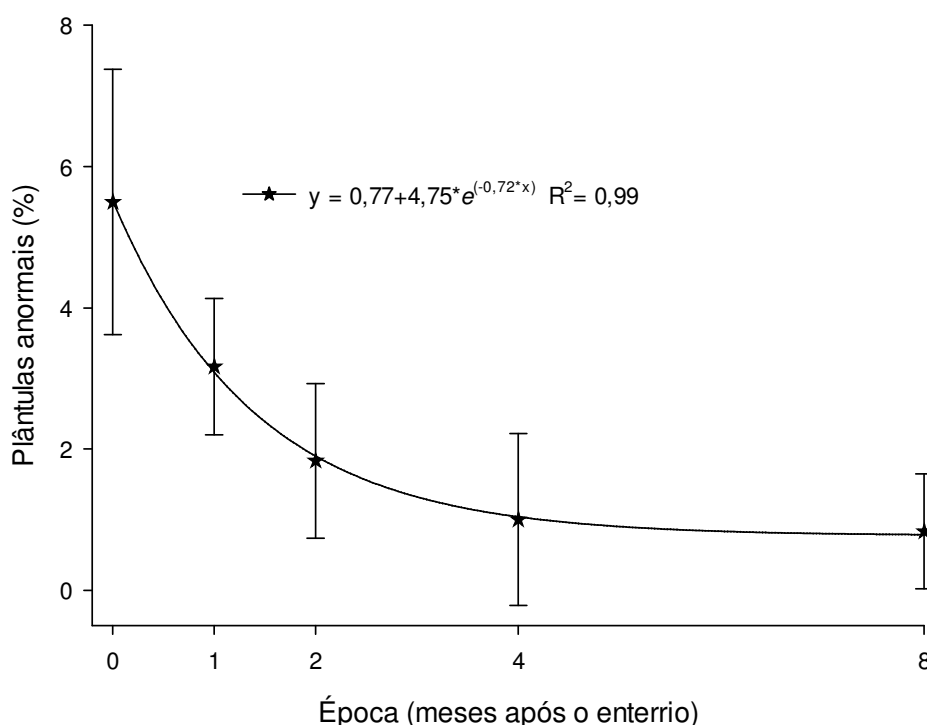


Figura 15- Plântulas anormais (%) de azevém diploide, em função do tempo de enterrio. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017. Os pontos representam os valores médios das repetições em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança de 95% de probabilidade.

Ao analisar conjuntamente as Figuras 12, 13, 14, 15 e 16 observou-se que a partir do quarto mês após o enterrio, independente da profundidade, quase a totalidade das sementes resgatadas germinavam ainda na primeira contagem (Figura 13). Ressalta-se que a primeira contagem de germinação é um indicativo de vigor, sendo que sementes de azevém com alto vigor, apresentam maior capacidade de ocupar o banco de sementes do solo e proporcionar ressemeadura natural (BARTH NETO et al., 2014). Assim as sementes quiescentes que ocupavam o banco de sementes do solo a partir do quarto mês, provavelmente possuíam alto vigor antes de serem enterradas.

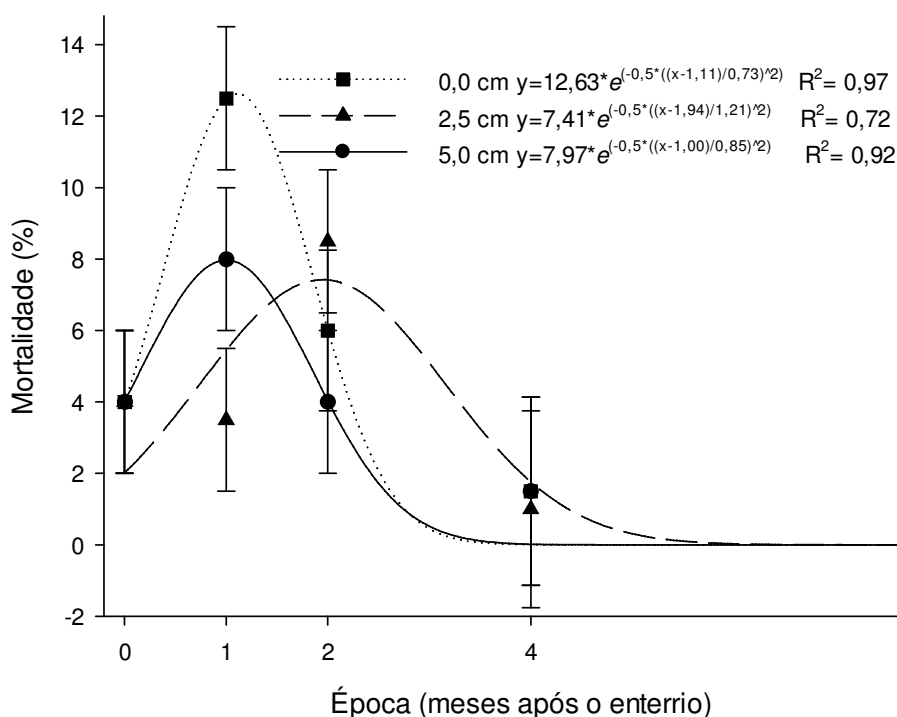


Figura 16- Mortalidade (%) de sementes de azevém diploide, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada profundidade em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança de 95% de probabilidade.

Com relação a variável sementes dormentes, verificou-se que os dados se ajustaram a equação de regressão exponencial decrescente (Figura 17). Ao analisar a curva, verificou-se que na profundidade de 0,0 cm a declividade foi 48 e 8% superior do que nas profundidades de 2,5 e 5,0 cm, respectivamente. Demonstrando que, quanto mais superficial as sementes são dispostas no solo, mais rápido ocorre à superação da dormência.

Nas três profundidades testadas, a partir do segundo mês, foi verificada ausência de dormência, ou seja, a condição de enterrio foi benéfica para prolongar a dormência das sementes do primeiro para o segundo mês de enterrio. Ressalta-se que as condições ideais para germinação a campo são obtidas somente a partir de abril/maio, logo as sementes de azevém ocupam inicialmente o banco de sementes do solo por dormência, e depois de superada, permanecem no banco no estado quiescente.

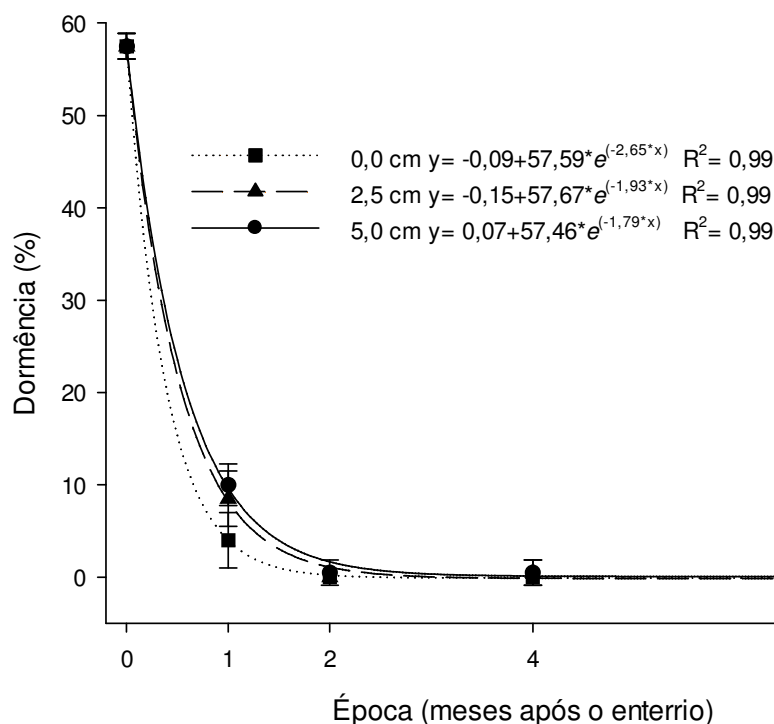


Figura 17- Dormência (%) de azevém diploide, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2017. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada profundidade em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança de 95% de probabilidade.

As sementes de azevém diploide apresentam dormência primária, esse tipo de dormência ocorre logo após o desenvolvimento do embrião, ainda quando a semente se encontra na planta mãe, impedindo a viviparidade, bem como, a germinação durante algum tempo após o amadurecimento e a colheita das sementes (RODRIGUEZ; JACOBO; DEREGIBUS, 1998). A dormência pode ser superada pelo uso de temperaturas alternadas (GUNDEL; MARTÍNEZ-GHERSA; GHERSA, 2008), assim, sementes em camadas mais superficiais do solo podem superar a dormência mais rapidamente, do que aquelas em camadas mais profundas, visto que na superfície do solo, a amplitude térmica é mais elevada.

O mecanismo de dormência em *L. multiflorum* ainda permanece incerto, sendo que as principais informações são disponíveis para *L. perene*, onde a manutenção da dormência das sementes é potencialmente mediada por ações de fotorreceptores nos comprimentos de onda azul e verde, por outro lado o vermelho distante atua como promotor da germinação, sugerindo a regulação via múltiplos fotorreceptores (GOGGIN; STEADMAN; POWLES, 2008). Para *L. multiflorum* acredita-se que a dormência seja controlada por fatores endógenos, sendo superada

por variações na temperatura (GUNDEL; MARTÍNEZ-GHERSA; GHERSA, 2008). No entanto, neste trabalho, mesmo após a superação da dormência, as sementes permaneciam quiescente no banco de sementes, sugerindo que *L. multiflorum* pode apresentar fotorreceptores para responder em relação à qualidade da luz e iniciar o processo germinativo.

A representação gráfica do estado das sementes no solo, em função da profundidade e tempo de enterrio, demonstrou gradiente de acordo com a profundidade (Figura 18). Na maior profundidade (5,0 cm), as sementes apresentam maior germinação e dormência, e menos sementes são depredadas/deterioradas, ou germinam a campo. Ainda, a análise conjunta confirma que em profundidades de enterrio superiores, a longevidade das sementes de azevém diploide é maior.

Os resultados deste trabalho revelaram redução do banco de sementes de azevém em 100, 96 e 86% no período do estudo de oito meses, para as profundidades 0,0; 2,5 e 5,0 cm, respectivamente (Figura 18). Assim, mudanças no manejo do solo, como semeadura direta ou sistemas convencionais, podem alterar a dinâmica do banco de sementes de azevém no solo. No sistema de semeadura direta as sementes normalmente ficam dispostas sobre a superfície do solo, logo, menor é a longevidade, porém mais facilmente essas sementes podem sair do estado quiescente, germinando e emergindo, quando as condições são favoráveis.

O preparo de solo pode proporcionar o aumento da longevidade das sementes, no entanto, se essas sementes forem enterradas a profundidades superiores a 5 cm, só conseguirão germinar e emergir, na presença de um novo distúrbio (CHAUHAN; GILL; PRESTON, 2006). Sendo que após o distúrbio, essas sementes devem ser dispostas na camada mais superficial do solo, e só assim poderão germinar e emergir se as condições ambientais são favoráveis ao desenvolvimento da espécie.

Essas características de germinação e longevidade resultam em adaptações, que permitem a disseminação e sobrevivência da espécie ao longo do tempo. Trabalhos ecofisiológicos, fornecem informações que permitem entender a biologia germinativa e a longevidade do banco de sementes de azevém, e assim, definir melhor as estratégias de manejo apropriadas para seu controle.

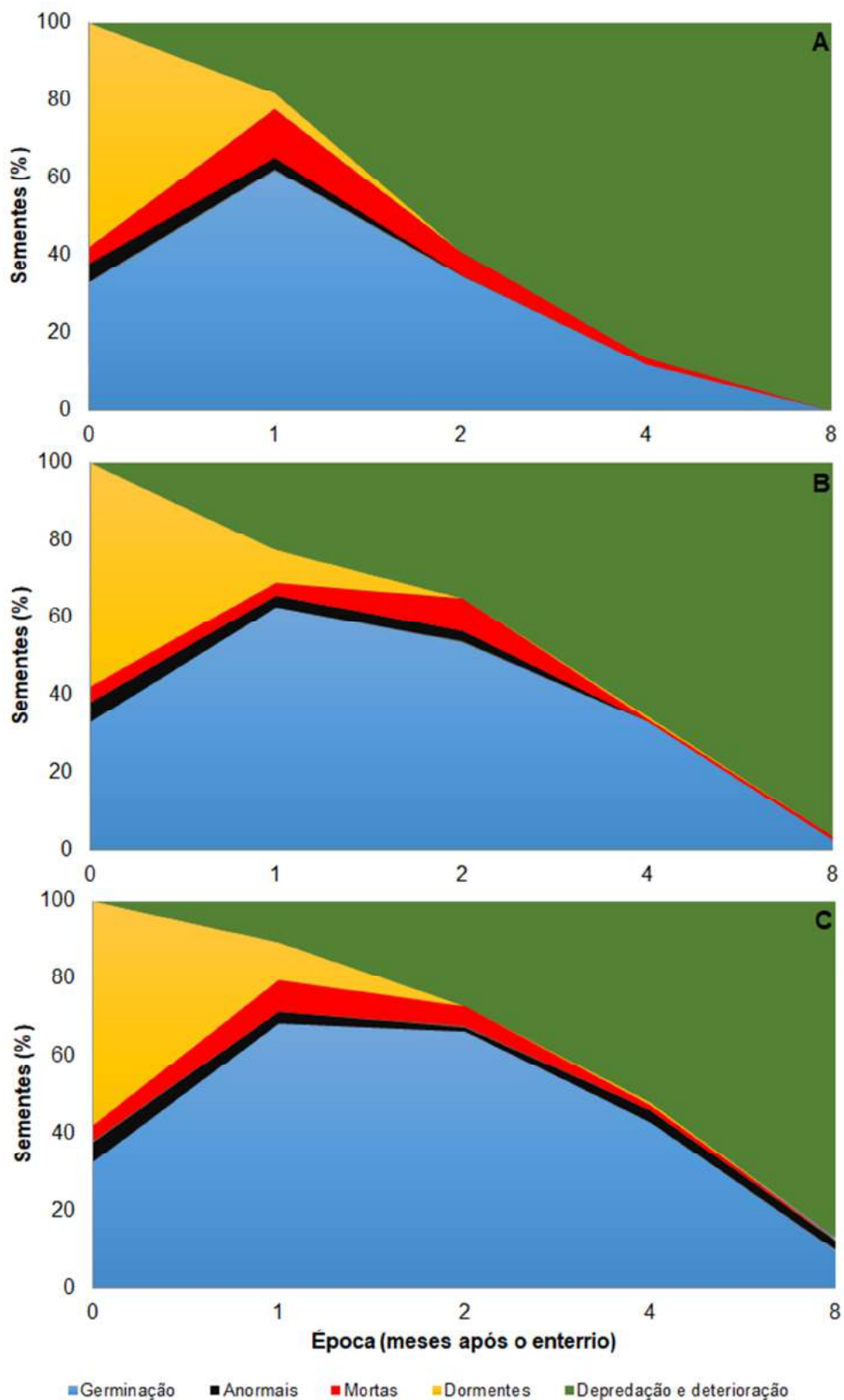


Figura 18- Representação gráfica da porcentagem de germinação, plântulas anormais, sementes: mortas, dormentes e predadas ou deterioradas; de azevém diploide (*Lolium multiflorum*), em função do tempo (0 a 8 meses) e profundidade de enterrio (0,0 cm (A); 2,5 cm (B) e 5,0 cm (C)). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017.

4.3.2 Experimento II: Longevidade de azevém tetraploide

A análise dos dados demonstrou interação significativa entre os fatores estudados para as variáveis sementes remanescentes, primeira contagem de germinação e germinação. Já, para plântulas anormais, mortalidade e sementes dormentes, observou-se efeito simples do fator tempo após o enterrio. A porcentagem de sementes resgatadas reduziu em função da prolongação da época de coleta, independente da profundidade de enterrio, sendo que os dados se ajustaram à equação de regressão exponencial decrescente (Figura 19).

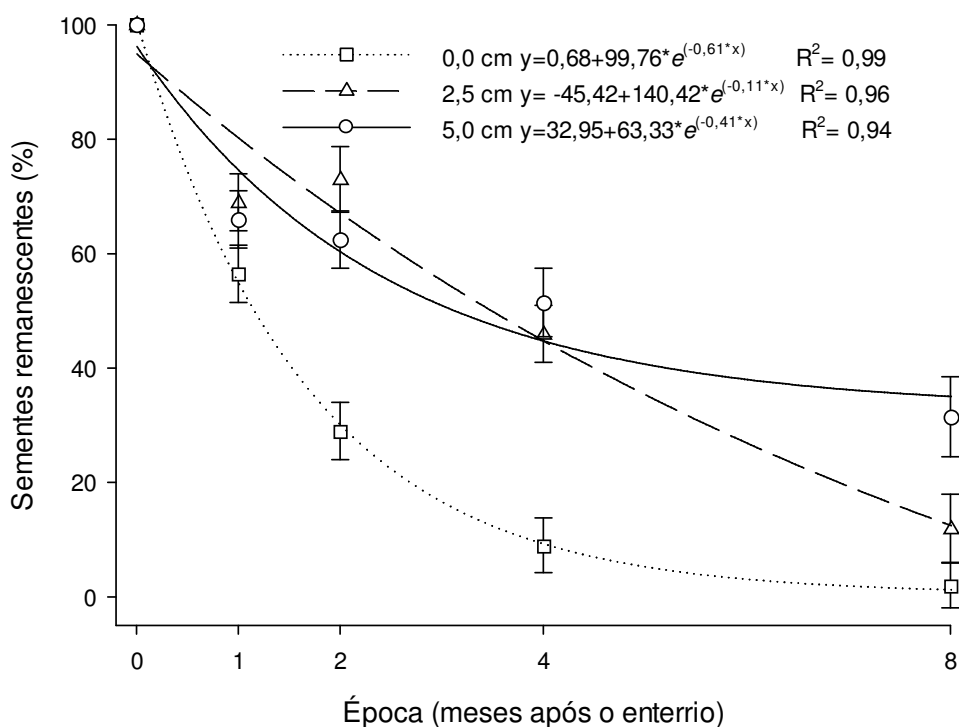


Figura 19- Sementes remanescentes (%) de azevém tetraploide, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada profundidade em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança de 95% de probabilidade.

O comportamento da curva foi diferente entre as profundidades de enterrio, em relação à porcentagem de sementes remanescentes. Ao analisar a declividade da curva, verificou-se que na profundidade de 0,0 cm a declividade da curva foi 33% superior do que na profundidade de 5,0 cm. Observou-se também estabilização da curva para a profundidade 0,0 cm em 0,68% de sementes resgatadas, enquanto para de 5,0 cm foi de 32,95%. Assim ressalta-se que a profundidade de enterrio

desempenha papel fundamental na longevidade de sementes, quanto mais superficial as sementes são dispostas no solo, menor é a persistência no banco de sementes.

Com referência a primeira contagem de germinação, apenas os dados da profundidade de 0,0 cm se ajustaram a equação de regressão exponencial decrescente (Figura 20). A ausência de enterrio reduziu consideravelmente o número de sementes resgatadas, resultando em menor percentagem de germinação, em comparação as profundidades de 2,5 e 5,0 cm.

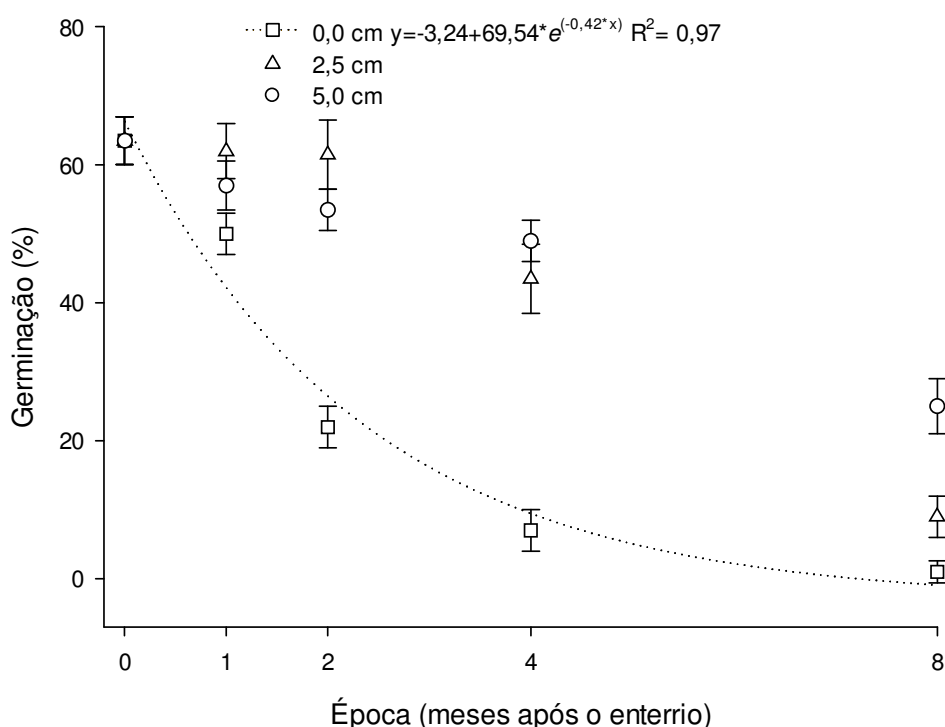


Figura 20- Germinação (%) de azevém tetraploide aos sete dias após a sementeira do teste de germinação, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada profundidade em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança de 95% de probabilidade.

Nas profundidades de 2,5 e 5,0 cm o comportamento foi similar, diferindo-se somente apenas no 8º mês, onde foi observado germinação de 10 e 30% para 2,5 e 5,0 cm, respectivamente. A diferença entre as profundidades de 2,5 e 5,0 cm no 8º mês, provavelmente se deve a germinação e emergência a campo das sementes dispostas a 2,5 cm, pois a partir de maio as condições são mais favoráveis para germinação, emergência e desenvolvimento da espécie. Analisando a profundidade de enterrio como estratégia de sobrevivência, verificou-se que sementes dispostas a

2,5 cm além de estender a longevidade, podem emergir a campo, quando as condições são favoráveis (CHAUHAN; GILL; PRESTON, 2006).

Para germinação, os dados se ajustaram a equação de regressão exponencial decrescente (Figura 21). Similarmente a primeira contagem, a menor germinação em laboratório foi observada na ausência de enterrio durante todos os meses após o enterrio, enquanto as profundidades 2,5 e 5,0 cm apresentaram comportamento similar até o quarto mês, diferindo no 8º mês, onde reduziu em 66% a germinação, quando se comparou a profundidade de 2,5 cm com a 5,0 cm.

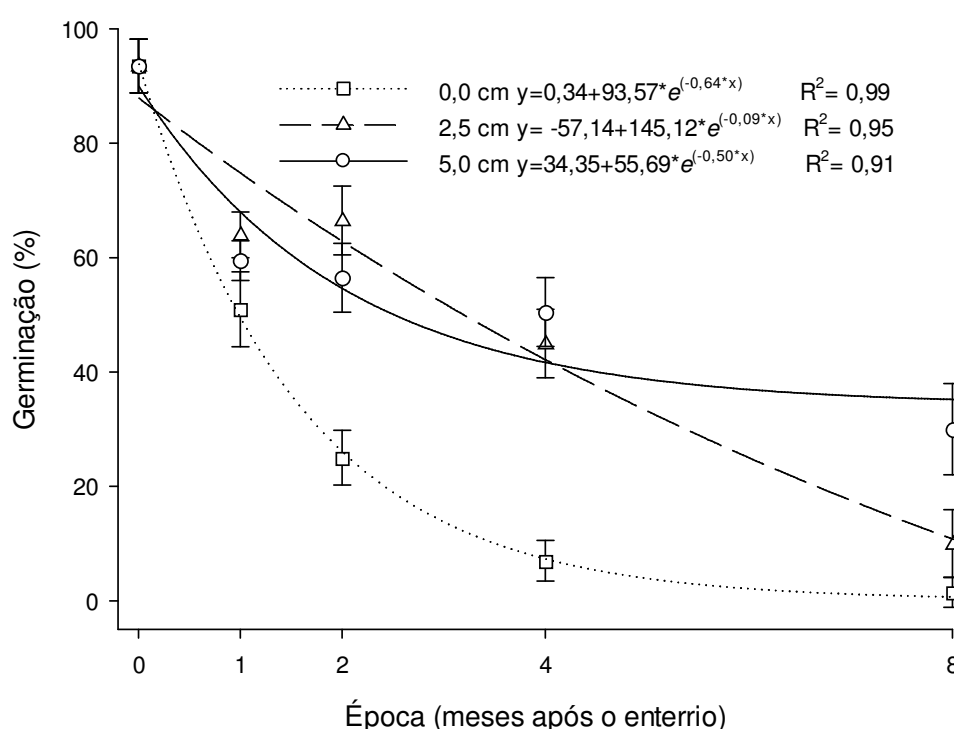


Figura 21- Germinação (%) de azevém tetraploide aos 14 dias após a sementeira do teste de germinação, em função do tempo e profundidade de enterrio. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada profundidade em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança de 95% de probabilidade.

Para plântulas anormais, verificou-se efeito simples de épocas de enterrio, sendo que os dados se ajustaram à distribuição normal de Gauss (Figura 22), onde a máxima porcentagem de plantas anormais (3%) foi observada no primeiro mês após o enterrio, e tendendo a zero a partir do segundo mês. Da mesma forma, os valores para sementes mortas em geral foram baixos, sem apresentar efeito em relação à profundidade de enterrio das sementes (Figura 23). Os maiores percentuais de mortalidade, entre 2 a 5% foram observados nos primeiros dois

meses após o enterrio, no entanto a partir do quarto mês foram observados valores iguais ou inferiores a 1%.

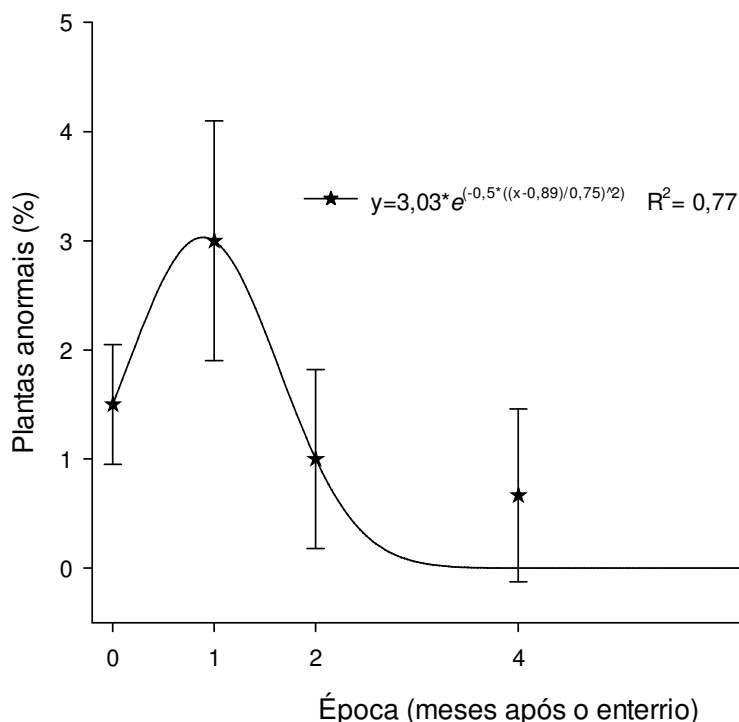


Figura 22- Plântulas anormais (%) de azevém tetraploide, em função do tempo de enterrio. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017. Os pontos representam os valores médios das repetições em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança de 95% de probabilidade.

Assim como observado para azevém diploide, as sementes que formavam plântulas anormais e/ou possuíam baixo vigor, ao serem enterradas, apresentaram baixa longevidade, ou seja, eram degradadas/deterioradas, ou morriam logo após o enterrio. A longevidade e vigor dependem das condições que as sementes são expostas durante o armazenamento. Sementes de *Leucospermum cordifolium* mantidas sob baixa temperatura demonstraram elevada viabilidade e vigor por dois anos após o armazenamento, em temperatura ambiente apresentaram um declínio acentuado após o primeiro ano, levando a mortalidade quase completa após 4 anos de armazenamento, já quando enterradas no solo, mantiveram alta viabilidade e vigor, de 80 e 60%, respectivamente, em comparação ao armazenamento a temperatura ambiente (BRITS et al., 2015).

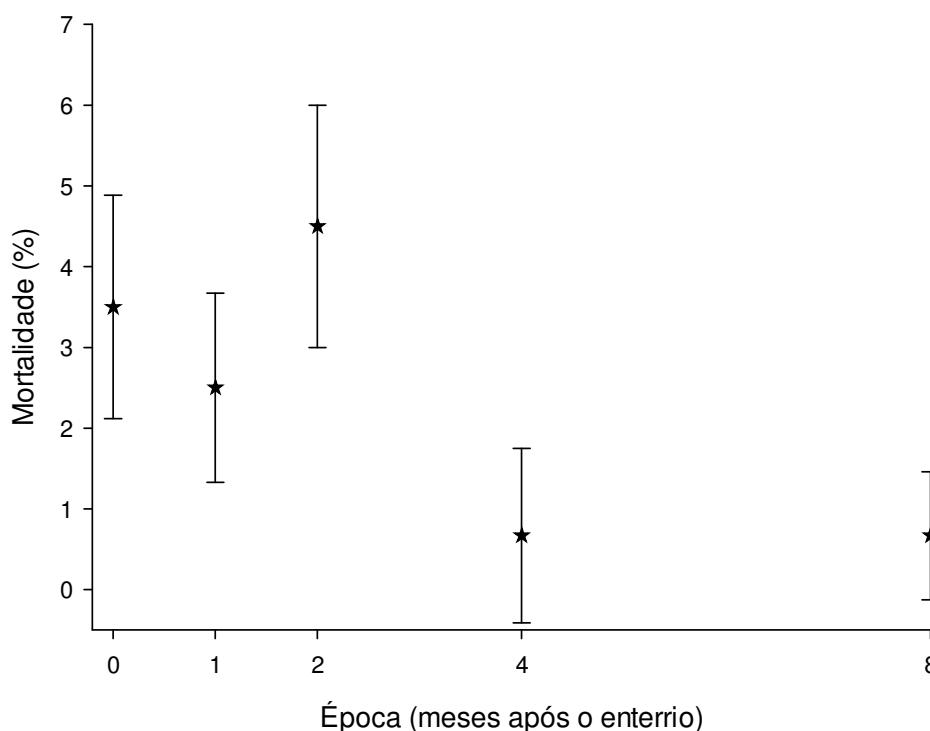


Figura 23- Mortalidade (%) de sementes de azevém tetraploide, em função do tempo de enterrio. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017. Os pontos representam os valores médios das repetições de cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança de 95% de probabilidade.

Com relação a sementes dormentes, verificou-se efeito simples de épocas de enterrio, sendo que os dados se ajustaram a equação de regressão exponencial decrescente (Figura 24). Os valores de dormência foram extremamente baixos para azevém tetraploide, sendo que o genótipo apresentou apenas alguns traços de dormência (menos de 2%), logo após a coleta da planta mãe (época 0), sendo que após o primeiro mês de enterrio, observou-se ausência de dormência das sementes.

Do ponto de vista do melhoramento genético, a ausência de dormência é um atributo desejável, pois facilita o monitoramento da qualidade fisiológica de lotes de sementes, logo após o beneficiamento, sem que haja necessidade de superação de dormência (MARTINS et al., 2016). Aliado a isso, os métodos de superação da dormência de azevém propostos pela RAS, além de onerosos, pela necessidade de pré-resfriamento e tratamento químico, não apresentam resultados satisfatórios (MARTINS et al., 2016).

Quando se objetiva a ressemeadura natural de azevém, a ausência de dormência pode afetar negativamente o número de sementes viáveis, que apresentam capacidade de emergir na próxima estação de cultivo. A permanência

no banco de sementes por quiescência pode comprometer a longevidade das sementes, sendo que, logo após as sementes serem depositadas na superfície do solo, pequenos períodos de condições favoráveis podem promover a germinação e emergência, e posteriormente voltar à condição normal, provocando a morte da plântula. Outra interferência negativa da ausência de dormência em azevém tetraploide é a possibilidade de germinação e emergência, concomitantemente com a cultura adotada em sucessão, podendo haver necessidade de controle, a fim de evitar perdas de produtividade.

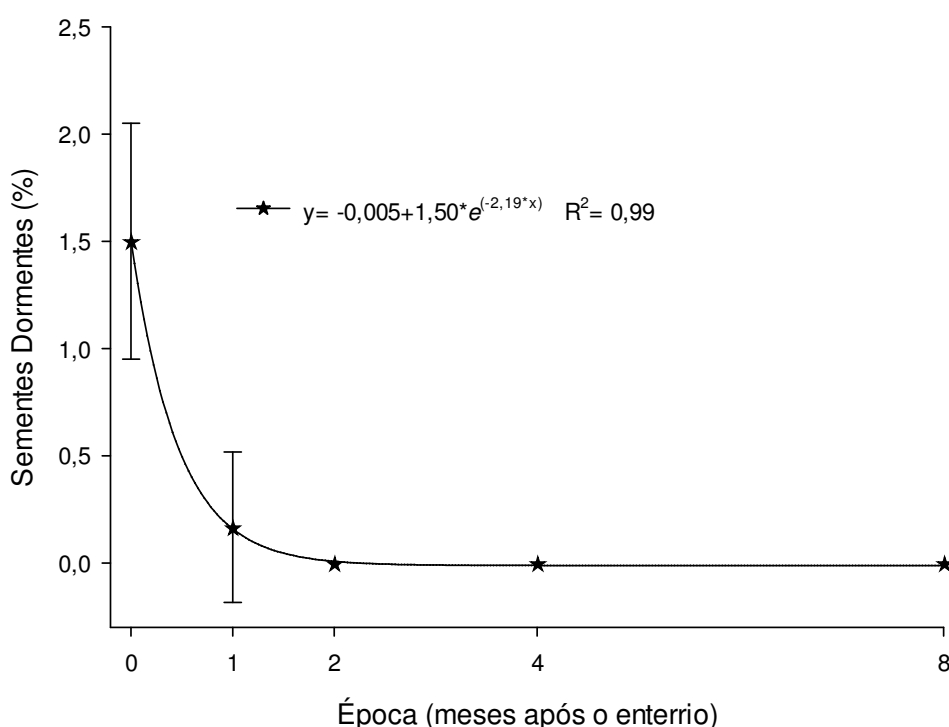


Figura 24- Dormência (%) de azevém tetraploide, em função do tempo de enterrio. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017. Os pontos representam os valores médios das repetições em cada época, e as barras, os respectivos intervalos de confiança de 95% de probabilidade.

Fatores genéticos e ambientais podem afetar a dormência de sementes, dentre os ambientais, estresse hídrico e alta temperatura são os principais (GALLAGHER et al., 2013; STEADMAN et al. 2004). Sementes de *L. rigidum* oriundas de plantas cultivadas sob condições de altas temperaturas, produziram menos sementes, mais leves e com baixo nível de dormência, do que aquelas cultivadas sob condições normais (STEADMAN et al. 2004). Sementes que se desenvolveram sob baixas temperaturas e condições de estresse hídrico perderam a dormência mais rapidamente do que aquelas cultivadas em condições adequadas

(STEADMAN et al. 2004). Do mesmo modo, a aplicação tardia de glyphosate reduziu a proporção de sementes de *L. rigidum* que apresentavam dormência (STEADMAN et al., 2006).

Em relação aos fatores genéticos, no caso de azevém tetraploide, a indução poliploidia pode alterar os níveis de expressão gênica de genes específicos, ocasionando mudanças fisiológicas ou morfológicas em comparação com seus pais (MADLUNG, 2013), provocando a ausência da expressão de genes ligados à dormência, pelo genoma poliploide. Como as sementes de azevém tetraploide foram produzidas na ausência de estresse ambiental, a alteração da expressão gênica proporcionada pela poliploidia, pode ser o provável motivo pelo qual as sementes apresentam apenas traços de dormência.

A representação gráfica do estado das sementes no solo, em função da profundidade e tempo de enterrio das sementes, apresentou gradiente segundo a profundidade (Figura 25). Ao longo do tempo, em maior profundidade de enterrio, as sementes apresentam maior germinação e menos sementes são depredadas e/ou deterioradas. Ainda, a análise conjunta confirma que em profundidades de enterramento superiores a longevidade das sementes foi prolongada.

Os resultados revelaram redução do banco de sementes de azevém tetraploide em 98, 88 e 68,5% no período do estudo de oito meses, para as profundidades 0,0; 2,5 e 5,0 cm, respectivamente (Figuras 19 e 25). Isso evidencia que a disposição das sementes no solo, afeta a velocidade de degradação/deterioração. O conhecimento dessas características pode auxiliar na tomada de decisão para evitar a emergência da espécie, quando indesejada na próxima estação de cultivo, ou favorecer a emergência quando se objetiva realizar ressemeadura natural. Do ponto de vista estratégico para a sobrevivência do genótipo tetraploide, a melhor profundidade de enterrio das sementes é de 2,5 cm, pois além de prolongar a longevidade permite a emergência das plântulas.

Caso o interesse seja esgotar o banco de sementes de azevém, a melhor estratégia para ambos os genótipos (Experimentos I e II) é evitar a movimentação do solo, uma vez que sementes dispostas sobre a superfície apresentam baixa longevidade, ou seja, mais rapidamente germinam ou são degradadas/deterioradas. No entanto, torna-se indispensável adotar medidas de controle que impeçam a reprodução das plantas que emergem, para evitar o processo cíclico de reabastecimento do banco de sementes solo.

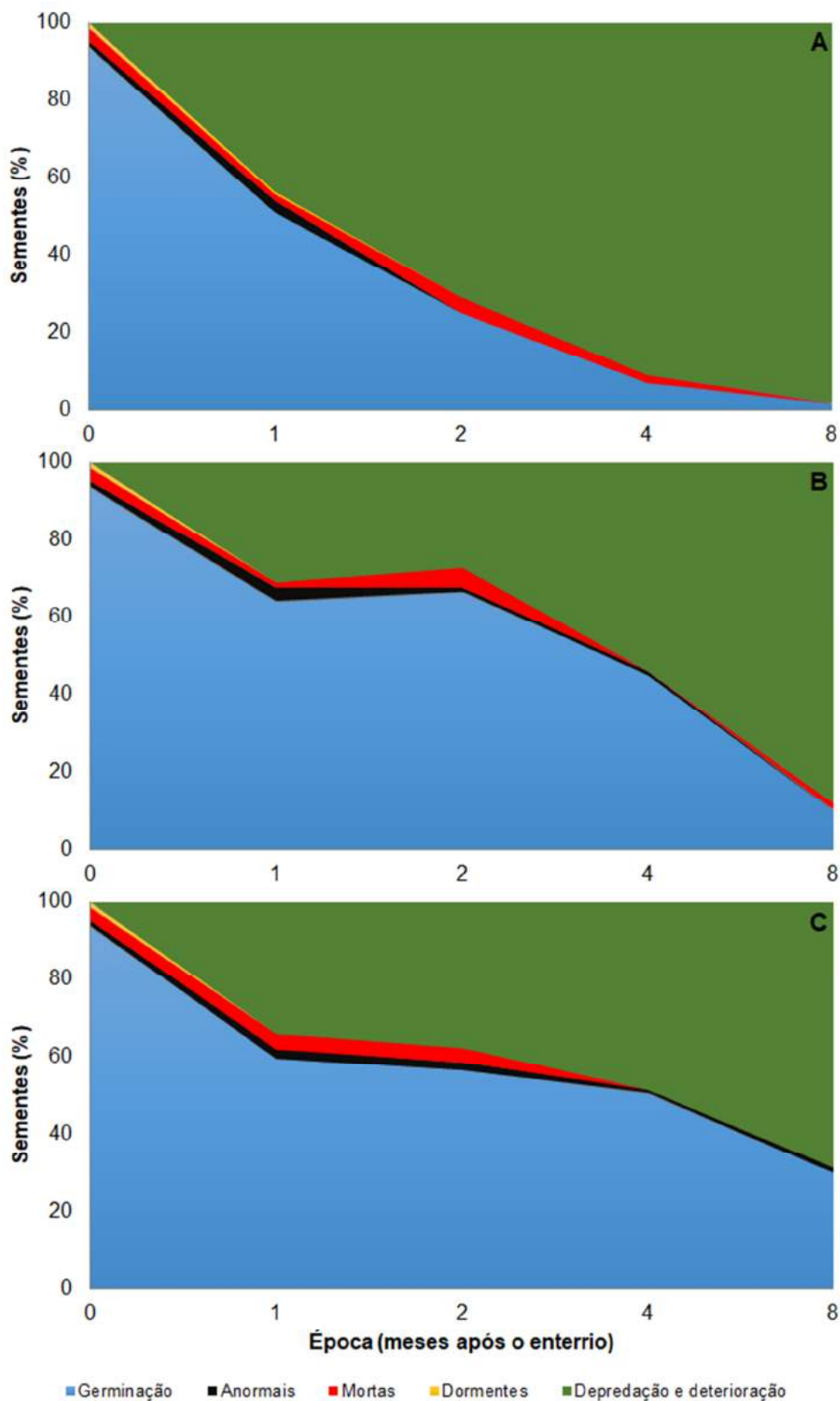


Figura 25- Representação gráfica da percentagem de germinação, plântulas anormais, sementes: mortas, dormentes e predadas ou deterioradas; de azevém tetraploide (*Lolium multiflorum*), em função do tempo (0 a 8 meses) e profundidade de enterrio (0,0 cm (A); 2,5 cm (B) e 5,0 cm (C)). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017.

4.4 Conclusões

Sementes de azevém diploide apresentam dormência primária, impedindo a germinação imediata após deposição no solo, enquanto sementes tetraploides não apresentam dormência, permanecendo no banco de sementes em estado quiescente.

Os genótipos diploides e tetraploides apresentaram sementes potencialmente emergentes no quarto mês após o enterrio, quando as condições ambientais são favoráveis para o desenvolvimento da espécie.

Independente do genótipo testado e do tempo após o enterrio, quanto maior a profundidade que as sementes são enterradas, maior é a longevidade do banco de sementes do solo.

5. CAPÍTULO IV – Qualidade fisiológica, sobrevivência, herança da resistência a glyphosate e contagem cromossômica em cruzamentos de azevém envolvendo níveis de ploidia.

5.1 Introdução

A multiplicação do genoma é muito frequente nas angiospermas, especialmente nas gramíneas, onde mais da metade das espécies são poliploides (GOLDBLATT, 1980). A duplicação do genoma é um fenômeno natural que se refere à presença de geralmente mais de dois conjuntos cromossômicos presentes nas células de um organismo, e tem sido uma força promotora da sobrevivência e evolução das plantas ao longo das gerações (ADAMS; WENDEL, 2005; WENDEL et al., 2016).

Por outro lado, a poliploidização artificial através de compostos antimitóticos é uma importante estratégia utilizada em programas de melhoramento genético forrageiro (PEREIRA et al., 2012). Permite aumentar a expressão de características agrônômicas de interesse, restaurar a fertilidade de híbridos intra e interespecíficos e, em alguns casos, possibilita a exploração da variabilidade genética em espécies apomíticas. Além disso, pode ser empregada para duplicar a relação sexual das plantas e igualar a ploidia para realização de cruzamentos e a obtenção de prole fértil (TIMBÓ et al., 2014; PEREIRA et al., 2017).

No caso de azevém, a indução da poliploidia promove melhorias na palatabilidade e digestibilidade da forragem, devido a maior quantidade de açúcares solúveis e menor relação colmo/folhas (RAMAKRISHNAN, 2004). Além disso, a rápida produção inicial, elevada produção de massa total e, período vegetativo mais longo, quando comparadas com azevém diploide (RAMAKRISHNAN, 2004; TONETTO et al., 2011). E essas características contribuíram para que nos últimos

anos, agropecuaristas no sul do Brasil implantassem cultivares originárias principalmente do Uruguai (TONETTO et al., 2011).

As cultivares de azevém tetraploides ($2n=4x=28$ cromossomos) interagem diretamente com a população diploide ($2n=2x=14$ cromossomos) de ocorrência natural, uma vez que, o genótipo diploide é a principal planta daninha de inverno em áreas agrícolas do sul do Brasil. Além da interação competitiva, em que cultivares tetraploides apresentam-se mais competitivas que plantas diploides da mesma espécie (GILLILAND et al., 2011), os genótipos podem se cruzar e trocar genes nos quais auxiliam na perpetuação da espécie. Apesar de estudos demonstrarem que a taxa de sobrevivência nos cruzamentos diploide x tetraploide de azevém ser baixa, onde apenas uma de cada 166 plantas conseguem superar o estágio de plântula (BUSTAMANTE et al., 2015).

Em relação ao fluxo gênico, a principal preocupação é a transferência de genes que conferem resistência à herbicidas das populações diploides, para a próxima geração, nos cruzamentos diploide x tetraploide, uma vez que, a resistência é controlada por genes nucleares de dominância completa (VARGAS; MORAES; BERTO, 2007; MARIANI et al., 2015). Atualmente, existem biótipos de azevém diploide com resistência simples e múltipla aos herbicidas inibidores da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), acetil coenzima-A carboxilase (ACCase) e acetolactato sintase (ALS) (HEAP, 2018).

A ausência de transferência de genes que conferem a resistência em cruzamentos envolvendo diferentes níveis de ploidia pode ser uma alternativa para reduzir a população de azevém diploide com resistência a herbicidas. Diante disso, esse estudo teve como hipótese que o cruzamento entre genótipos de azevém ocorre naturalmente, porém devido a presença de cromossomos não pareados na meiose, os indivíduos gerados apresentam taxa de sobrevivência reduzida e não transferem a resistência ao glyphosate para a próxima geração. Os objetivos presente trabalho foram determinar a qualidade fisiológica, viabilidade, sobrevivência, herança da resistência ao glyphosate e o número de cromossomos em cruzamentos de genótipos de azevém envolvendo ploidia e resistência ao glyphosate do genótipo diploide.

5.2 Material e Métodos

Os cruzamentos, o ensaio de sobrevivência e de herança da resistência ao glyphosate, foram conduzidos em casa de vegetação pertencente ao CEHERB/FAEM/UFPEL. As análises de qualidade fisiológica e viabilidade das sementes no Laboratório Didático de Análise de Sementes da FAEM/UFPEL. Já, a contagem de cromossomos, no Laboratório de Genética do Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética do IB/UFPEL. Inicialmente, sementes de azevém diploide com suspeita de resistência foram previamente coletadas a campo em Passo Fundo - RS (coordenadas 28°13'49" S e 52°24'23" O), sendo semeadas em bandejas e no estádio de 4 a 6 folhas, pulverizadas com glyphosate na dose de 2,160 g e.a. ha⁻¹ (Glifosato Atanor 48[®]).

As plantas sobreviventes foram consideradas diploides homozigotas resistentes e a cultivar tetraploide INIA TITAN[®], foi tida como em homozigose para a suscetibilidade. A partir destas plantas realizaram-se os cruzamentos entre o genótipo diploide resistente (DRR x DRR), entre o genótipo tetraploide tido como suscetível (TSC x TSC), e entre os genótipos (DRR x TSC) em estufas individualizadas e vedadas, a fim de evitar contaminações com pólen externo. Cada cruzamento apresentou cinco repetições, sendo que a distribuição dos cruzamentos nas estufas foi designada completamente ao acaso.

A partir dos cruzamentos, obtiveram-se as sementes F1 provenientes dos cruzamentos: DRR[♂] x DRR[♀], TSC[♂] x TSC[♀], DRR[♀] x TSC[♂], DRR[♂] x TSC[♀]. As sementes cheias de cada cruzamento foram selecionadas manualmente com a utilização de diafanoscópio, armazenadas a 10 °C, durante cinco meses, para posterior utilização nos experimentos que serão detalhados a seguir.

5.2.1 Experimento I: Germinação e viabilidade de sementes

Em caixas do tipo gerbox, sobre duas folhas de papel mata-borrão, foram semeadas quatro repetições de 50 sementes por repetição para cada cruzamento, distribuídas inteiramente ao acaso para germinação em câmaras de crescimento tipo BOD, regulada com temperatura alternada diurna de 30 °C (oito horas) e noturna de 20 °C (16 horas) (BRASIL, 2009). As avaliações foram realizadas aos cinco e

quatorze dias após a semeadura, sendo avaliada a germinação (G); plântulas anormais (PA); sementes mortas (SM); e sementes duras (SD).

Após a finalização do teste de germinação avaliou-se a viabilidade das sementes consideradas dormentes através do teste de tetrazólio (sal 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio a 1,0 %), sendo consideradas viáveis aquelas sementes que apresentassem embrião completamente colorido, nas tonalidades rosa ou carmim (BRASIL, 2009). Para isso, sementes consideradas duras aos 14 DAS, foram bi seccionadas longitudinalmente desde embrião até três quartos do endosperma, sendo apenas uma das metades colocadas em solução de tetrazólio, em recipiente de vidro transparente e fechado com papel alumínio para evitar a entrada de luz, por 24 horas e temperatura de $\pm 30^{\circ}$ C (BRASIL, 2009).

As médias de germinação, plântulas anormais e sementes mortas, viáveis e inviáveis foram expressas em percentagem, sendo avaliadas quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e submetidas à ANOVA ($p \geq 0,05$), quando significativas às médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

5.2.2 Experimento II: Sobrevivência de plântulas e herança da resistência ao herbicida glyphosate

As plântulas consideradas normais na primeira contagem do teste de germinação, descrito anteriormente, foram transplantadas em bandejas contendo uma proporção de 3/1 de solo/substrato. Em cada repetição de cada cruzamento foram transplantadas quatro repetições, inteiramente ao acaso de 25 plantas, totalizando 500 plântulas transplantadas por cruzamento. Nos cruzamentos que apresentaram reduzida viabilidade de sementes, realizou-se o transplante do máximo de plântulas germinadas aos cinco dias após a semeadura.

Quando as plantas atingiram o estágio de seis folhas avaliou-se a percentagem de sobrevivência das plantas dos cruzamentos e pulverizou-se sobre as mesmas glyphosate na dose de 2160 g e.a. ha^{-1} (Glifosato Atanor 48[®]). A aplicação foi realizada utilizando-se pulverizador costal de precisão, pressurizado a CO_2 , equipado com barra de pulverização, contendo quatro pontas da série AXI 110.15, espaçadas a 50 cm, aspergindo volume de calda de 120 L ha^{-1} sobre as plantas.

As variáveis avaliadas foram percentagem sobrevivência das plantas até o estágio de seis folhas e eficiência de controle das plantas com o herbicida glyphosate. A percentagem de controle foi avaliada aos 21 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), contabilizando o número de plantas que sobreviveram a aplicação do herbicida. Os dados foram avaliados quanto à normalidade e submetidos à ANOVA ($p \geq 0,05$), quando significativas as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

5.2.3 Experimento III: Contagem cromossômica

As sementes de cada cruzamento foram submetidas ao teste de germinação. Quando as raízes apresentaram até 1,5 cm de comprimento foram embebidas em 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) na concentração de 0,002M por 24 horas, sendo mantidas a 4 ± 1 °C. Decorrido este período, o material foi fixado em álcool absoluto e ácido acético glacial na proporção 3:1 (fixador de Carnoy I), em temperatura ambiente. Em seguida o material foi armazenado em fixador de Carnoy I, a 4-6 °C, até a preparação das lâminas.

Para se efetuar a preparação das lâminas foi realizada a tríplice lavagem em água destilada das plântulas removidas do fixador, sendo hidrolisadas em HCl 5N por 20 min, sob temperatura ambiente. Após a hidrólise, realizou-se novamente a tríplice lavagem, sendo removido das plântulas somente a coifa da raiz, com auxílio de lupa e agulhas histológicas. As coifas foram esmagadas na lâmina com uma gota de coranteorceína acética 2%, com auxílio de bastão de vidro. O material depositado sobre a lâmina foi coberto com lamínula, brevemente aquecido sobre chama de lamparina e prensado com auxílio de uma microprensa, para que finalmente a lâmina estivesse pronta para ser analisada em microscópio.

A contagem cromossômica foi realizada em dez lâminas, com metáfases que permitiam contagem, por repetição de cada cruzamento, totalizando 50 plantas por cruzamento. No caso de repetições em que germinação foi inferior a dez plântulas, ou que não permitiram preparar dez lâminas com metáfases adequadas para contagem, realizou-se contagem a partir da disponibilidade de material.

5.3 Resultados e Discussão

Os resultados e discussão serão apresentados de acordo com a sequência das atividades apresentadas no material e métodos. Sendo que, os resultados do teste de normalidade revelaram não haver necessidade de transformação dos dados em todos os ensaios realizados.

5.3.1 Experimento I: Germinação e viabilidade das sementes

No ensaio de germinação e viabilidade das sementes produzidas pelos cruzamentos, foi constatado efeito significativo, para as variáveis primeira contagem de germinação, germinação, sementes mortas viáveis e inviáveis (Tabela 12). Os cruzamentos de azevém ocorreram com sucesso nas mini estufas individualizadas, uma vez que, sementes produzidas entre os cruzamentos envolvendo o mesmo nível de ploidia, sendo as progênes (DRR♂ x DRR♀) em homozigose para a resistência ao glyphosate e (TSC♂ x TSC♀) em homozigose para suscetibilidade, apresentaram germinação superior a 70% na contagem de germinação realizada aos 14 DAS.

Tabela 12- Germinação aos cinco e 14 dias após a semeadura, plântulas anormais, sementes mortas, viáveis e inviáveis de cruzamentos de genótipos azevém envolvendo níveis de ploidia e resistência ao glyphosate no genótipo diploide, FAEM/UFPEI, Capão do Leão/RS, 2017.

| Cruzamento | Germinação ¹ | | Plântulas ¹ Anormais | Sementes ¹ | | |
|-------------|-------------------------|---------|------------------------------------|-----------------------|---------|-----------|
| | 5 dias | 14 dias | | Mortas | Viáveis | Inviáveis |
| DRR♂ x DRR♀ | 63 b | 70 b | 2 ^{ns} | 19 b | 78 a | 22 b |
| TSC♂ x TSC♀ | 84 a | 88 a | 1 | 09 b | 89 a | 11 a |
| DRR♀ x TSC♂ | 05 c | 06 c | 1 | 91 a | 08 b | 92 a |
| DRR♂ x TSC♀ | 86 a | 88 a | 1 | 10 b | 89 a | 11 a |
| CV (%) | 16,7 | 13,6 | 105,6 | 23,8 | 11,84 | 21,84 |

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ^{ns} Não significativo. ¹ Valores expressos em percentagem. DRR: genótipo diploide resistente ao glyphosate, TSC: genótipo tetraploide suscetível ao glyphosate, ♂: genitor masculino, ♀: genitor feminino.

As sementes da progênie DRR♀ x TSC♂, apresentaram baixa percentagem de germinação, sendo que apenas 6% das sementes germinaram na contagem aos 14 DAS (Tabela 12). Esses resultados indicam que as sementes oriundas de plantas diploides, polinizadas por plantas tetraploides são inviáveis, sendo que as sementes

que germinaram e formaram plântulas normais (6%), provavelmente foram oriundas da pequena taxa de autofecundação presente na espécie (FEARON; HAYWARD; LAWRENCE, 1983).

A progênie DRR♀ x TSC♂ apresentou elevada mortalidade, sendo que 91% das sementes apresentavam-se mortas no final do teste de germinação (Tabela 12). Por outro lado, a progênie DRR♀ x TSC♂, não apresentou problemas de germinação, sendo os valores observados similares ao cruzamento entre os pais TSC♂ x TSC♀, no qual não envolveu diferença de ploidia, pois ambos eram tetraploides. Esse resultado também foi observado no cruzamento de azevém perene diploide x híbrido tetraploide em câmara de crescimento isolada, onde as sementes produzidas pela planta diploide eram contraídas e apresentavam menos de 1% de germinação, por outro lado, as sementes produzidas pela planta tetraploide germinavam normalmente (AHLOOWALIA, 1975).

Resultados similares também foram observados em melancia, onde só se obtiveram sementes viáveis do cruzamento no sentido $4n♀ \times 2n♂$, já quando o cruzamento efetuado foi inverso, isto é, $2n♀ \times 4n♂$ não houve fertilização (MEDINA et al., 1958). Os mesmos autores verificaram que, de 170 flores de melancia polinizadas no sentido $2n♀ \times 4n♂$ produziram apenas dois frutos de tamanho normal, onde um deles com 290 sementes chochas e outro com 842 sementes diploides.

No processo de formação de sementes em cruzamentos entre plantas diploides, o embrião diploide é formado após a fertilização contendo uma contribuição igual do genoma materno e paterno (VAN ZANTEN; LIU; SOPPE, 2013). O endosperma também é um produto de fertilização, mas é triploide e contém dois equivalentes de genoma materno e um paterno equivalente (VAN ZANTEN; LIU; SOPPE, 2013). Finalmente, o tegumento é diploide contém apenas o tecido materno (VAN ZANTEN; LIU; SOPPE, 2013). Desta forma, teoricamente os cruzamentos DRR♀ x TSC♂, deveriam possuir embrião triploide, endosperma tetraploide, enquanto o tegumento seria diploide. No entanto a incompatibilidade dos conjuntos cromossômicos que formam o embrião em cruzamentos DRR♀ x TSC♂ (RUCHEL et al., 2015), pode explicar a elevada quantidade de sementes inviáveis (92%), nas quais apresentavam ausência de embrião, quando foram submetidas ao teste de tetrazólio (Figura 26).

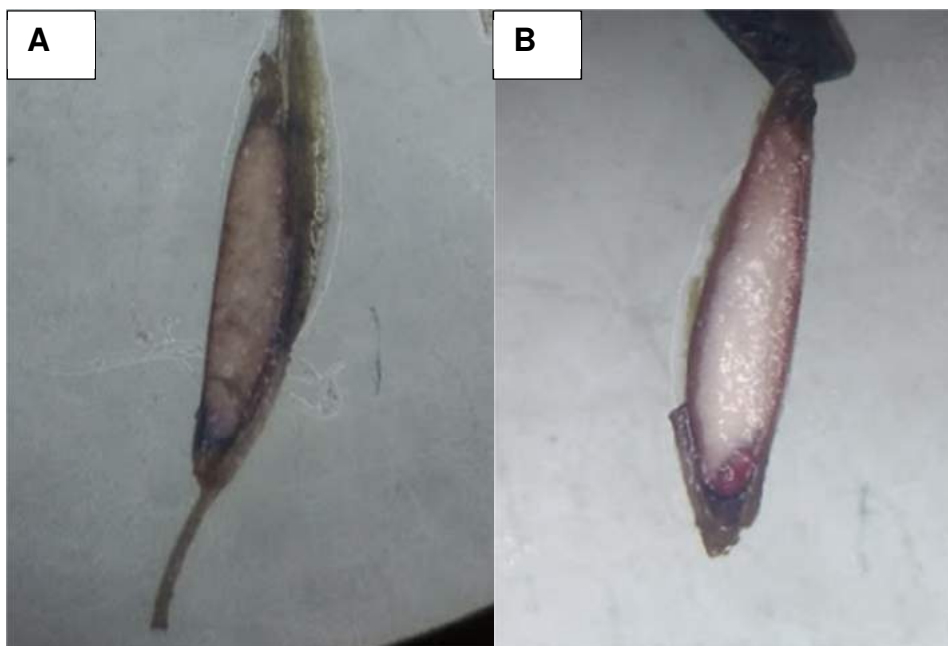


Figura 26- Sementes de azevém oriunda do cruzamento DRR♀ x TSC♂, com embrião ausente (A) e presente (B) após a exposição ao sal 2, 3, 5 trifetil cloreto de tetrazólio a 1,0% por 24 horas, FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017.

5.3.2 Experimento II: Sobrevivência de plântulas e herança da resistência ao herbicida glyphosate

A progênie oriunda do cruzamento DRR♂ x TSC♀ apresentaram baixa sobrevivência, sendo que, 46% das plantas transplantadas morreram desde o transplante até a aplicação de glyphosate (Tabela 13). Bustamante et al. (2015) ao trabalharem com cruzamentos envolvendo genótipos diploides e tetraploides de azevém, observaram problemas de germinação ou mesmo morte das plântulas logo após a germinação. No entanto, esses autores utilizaram a metodologia de cruzamentos proposta por Stelling (1995), que consistiu na mistura das sementes produzidas pelos genitores femininos diploides e tetraploides. Neste trabalho as sementes foram colhidas separadamente no cruzamento diploide x tetraploide, verificou-se problemas de germinação das sementes produzidas apenas pelo genitor feminino diploide, conforme descrito no tópico anterior, e de sobrevivência das plantas somente das sementes produzidas pelo genitor feminino tetraploide.

A modificação dos níveis de ploidia pode levar a extensiva modificação na expressão gênica, devido ao silenciamento, retenção e perda de genes duplicados, diversificação funcional e subfuncionalidade (ADAMS; WENDEL, 2005). As plântulas

após a germinação necessitam ativar uma série de genes para se tornarem fotoautotróficas e independentes das reservas de armazenamento do endosperma (VAN ZANTEN; LIU; SOPPE, 2013). A extrema mudança da expressão genica durante este período, aliada a dificuldade das plântulas com o genoma duplicado regularem a expressão genica, ou a própria perda de genes funcionais (ADAMS; WENDEL, 2005; VAN ZANTEN; LIU; SOPPE, 2013), provavelmente desencadearam mortalidade de indivíduos da progênie DRR♂ x TSC♀ que apresentavam ploidia diferente de seus progenitores.

Tabela 13- Sobrevivência de plantas de azevém avaliadas no estágio de seis folhas, anteriormente a aplicação de glyphosate, plantas sensíveis e resistentes (%) a glyphosate, em cruzamentos de genótipos azevém envolvendo níveis de ploidia e resistência ao glyphosate do genótipo diploide. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017.

| Cruzamento | Plantas avaliadas | Sobrevivência | | |
|-------------|-------------------|---------------|-----------|-------------|
| | | (%) | Sensíveis | Resistentes |
| DRR♂ x DRR♀ | 500 | 80 b | 28 c | 72 a |
| TSC♂ x TSC♀ | 500 | 96 a | 100 a | 0 c |
| DRR♀ x TSC♂ | 52 | 86 ab | 68 b | 32 b |
| DRR♂ x TSC♀ | 500 | 54 c | 100 a | 0 c |
| CV (%) | - | 7,94 | 8,74 | 25,23 |

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). DRR: genótipo diploide resistente ao glyphosate, TSC: genótipo tetraploide suscetível ao glyphosate, ♂: genitor masculino, ♀: genitor feminino.

Em relação à herança a resistência ao glyphosate, não foram identificadas plantas resistentes ao glyphosate nas progênies TSC♂ x TSC♀ e DRR♂ x TSC♀ (Tabela 13). A resistência do azevém ao glyphosate é codificada por um gene semidominante nuclear, podendo ser disseminada para populações suscetíveis via pólen (VARGAS; MORAES; BERTO, 2007). A sensibilidade ao glyphosate de toda progênie DRR♂ x TSC♀, na qual plantas diploides resistentes ao glyphosate polinizaram tetraploides suscetíveis, pode ser devida a três fatores principais.

Primeiramente, a fecundação envolvendo diferença de ploidia, pode ter levado a ocorrência de genoma incapaz de expressar genes indispensáveis pelo metabolismo primário da planta, desencadeando a morte das plantas (ADAMS; WENDEL, 2005), conforme descrito anteriormente. Por outro lado, a fecundação pode ter levado a perda de genes duplicados, diversificação funcional e subfuncionalidade (ADAMS; WENDEL, 2005), logo o(s) gene(s) que conferem a resistência ao glyphosate podem ter deixado de serem expressos. Finalmente, as

plantas desse cruzamento que foram suscetíveis a aplicação de glyphosate, podem ser oriundas da autofecundação proveniente da espécie (FEARON; HAYWARD; LAWRENCE, 1983).

Apesar do cruzamento $DRR\sigma \times DRR\varphi$ ter sido considerado em homozigose para resistência, 28% das plantas morreram com a aplicação de glyphosate (Tabela 13). Quando a resistência é coordenada por alelos de dominância incompleta, como no caso de azevém (VARGAS; MORAES; BERTO, 2007) o fenótipo dos indivíduos heterozigóticos é intermediário entre os fenótipos dos pais homozigotos, desta forma, cada indivíduo pode apresentar diferente resposta a aplicação do herbicida na qual os progenitores eram resistentes. Assim, com a mesma dose de glyphosate utilizada neste estudo (2160 g ha^{-1}), Vargas, Moraes e Berto (2007), verificaram fitotoxicidade de 60%, mesmo em plantas oriundas do cruzamento entre biótipos resistentes, aos 45 dias após a aplicação.

Quando as plantas tetraploides polinizaram as plantas diploides resistentes ao glyphosate (cruzamento $DRR\varphi \times TSC\sigma$), a progênie apresentou redução de 47% de plantas resistentes ao glyphosate, em comparação a progênie homozigota ($DRR\sigma \times DRR\varphi$) resistente ao glyphosate. Em vista dos resultados verificados da herança da resistência ao glyphosate em azevém, envolvendo níveis de ploidia, pode-se inferir que a semeadura de azevém tetraploide apresenta-se como uma alternativa segura para reduzir ou evitar a disseminação da população diploide resistente a glyphosate, em áreas que apresentam esse problema.

5.3.3 Experimento III: Contagem cromossômica

Na contagem cromossômica oriundas do material genético contido nas coifas de plântulas das progênies dos cruzamentos $DRR\sigma \times DRR\varphi^1$ e $TSC\sigma \times TSC\varphi$, verificou-se que todas plantas avaliadas eram diploides ($2n$) e tetraploides ($4n$), respectivamente, conforme esperado (Tabela 14; Figura 27). Em cultivares tetraploides de azevém, podem ser observadas plantas mixoplóides, uma vez que a indução da poliploidia com colchicina em plantas diploides não é homogênea, podendo células de alguns tecidos apresentarem-se duplicadas e outras não, desta forma podem ser regeneradas ao longo das gerações plantas com células variando de 14 a 28 cromossomos (PEREIRA et al., 2017).

Tabela 14- Contagem cromossômica de cruzamentos de genótipos de azevém, envolvendo níveis de ploidia e resistência ao glyphosate do genótipo diploide. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017.

| Cruzamento | Metáfases avaliadas | Ploidia observada (%) | | | |
|-------------|---------------------|-----------------------|-----|-----|----|
| | | 2x | 3x | 4x | 5x |
| DRR♂ x DRR♀ | 50 | 100 | - | - | - |
| TSC♂ x TSC♀ | 50 | - | - | 100 | - |
| DRR♀ x TSC♂ | 22 | 95,5 | 4,5 | - | - |
| DRR♂ x TSC♀ | 50 | - | 10 | 65 | 25 |

DRR: genótipo diploide resistente ao glyphosate, TSC: genótipo tetraploide suscetível ao glyphosate, ♂: genitor masculino, ♀: genitor feminino.

Na progênie DRR♀ x TSC♂, apenas 22 metáfases com cromossomos visíveis foram avaliadas, em virtude da reduzida viabilidade das sementes oriundas deste cruzamento (Tabela 14). Apenas uma das 22 plântulas avaliadas apresentou cromossomos triploides (3n), sendo que as demais plântulas avaliadas apresentaram cromossomos diploides, ou seja, 95% progênie DRR♀ x TSC♂ demonstrou mesma ploidia apresentada pelo genitor feminino.

Ressalta-se que a progênie DRR♀ x TSC♂ apresentou elevada percentagem de sementes inviáveis, no teste de tetrazólio, devido ausência de embrião das sementes (Tabela 12). Por outro lado, reduzido número de plantas triploides, nos quais eram esperados neste cruzamento. Esses resultados corroboram com outros autores, que descrevem a incompatibilidade dos conjuntos cromossômicos que formam o embrião em cruzamentos $2n♀ \times 4n♂$ (RUCHEL et al., 2015; MEDINA et al., 1958), levando a inviabilidade das sementes oriundas deste cruzamento. As plântulas diploides observadas neste cruzamento (95%), provavelmente são oriundas da pequena taxa de autofecundação decorrente da espécie.

A progênie DRR♂ x TSC♀ apresentou plântulas variando de triploides a pentaploides (5n). Esperava-se que os descendentes deste cruzamento demonstrassem células com 3 cópias de cromossomos, no entanto apenas 10% das plântulas avaliadas, apresentaram-se triploides. Técnicas de reprodução envolvendo emasculação podem ser empregadas para aumentar a eficiência na obtenção de descendentes triploides de azevém (BUSTAMANTE et al., 2015), no entanto como o objetivo deste trabalho era verificar o cruzamento natural entre os genótipos esse procedimento não foi realizado.

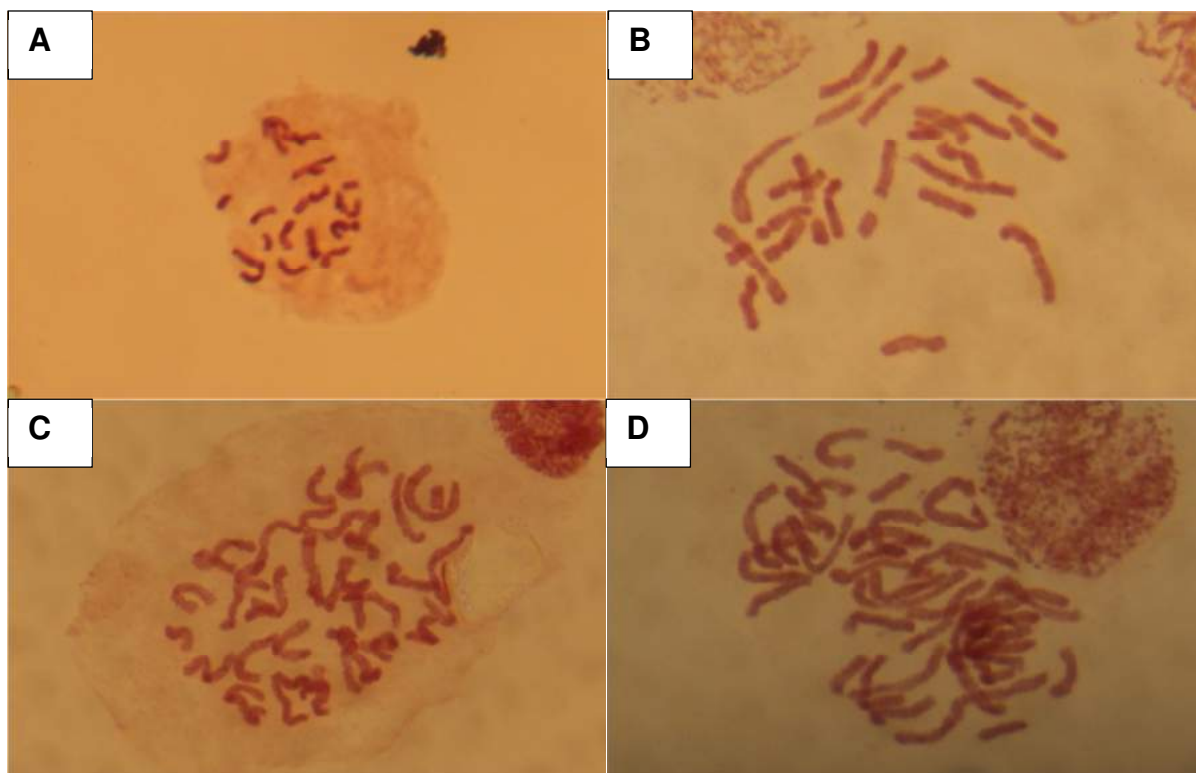


Figura 27- Cromossomos de azevém diploide $2n$ (A), triploide $3n$ (B), tetraploide $4n$ (C) e pentaploide $5n$ (D) oriundos do cruzamento entre plantas diploides e tetraploides, apresentando o genótipo diploide resistência ao herbicida glyphosate. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2017.

Em cruzamentos de azevém diploide ♂ com três cultivares tetraploides ♀, na ausência de emasculação, Bustamante et al. (2015) encontraram descendentes triploides capazes de chegar a fase adulta somente de sementes colhidas da cultivar Barjumbo®, na proporção de uma planta triploide em cada 166 sementes colhidas do genitor feminino tetraploide. Esses mesmos autores observaram que cultivares tetraploides apresentaram plantas variando de diploides a tetraploides, sendo esse fato devido a provável mistura de sementes na multiplicação de sementes parentais para uso comercial, pois é extremamente difícil separar visualmente plantas com diferentes níveis de ploidia.

A autofecundação também prevaleceu no cruzamento DRR♂ x TSC♀, pois 65% das plântulas demonstraram mesma ploidia apresentada pelo genitor feminino tetraploide. Por outro lado, 25% das plântulas apresentaram cinco cópias de cromossomos, sendo esse fato pela primeira vez reportado em cruzamentos de *L. multiflorum* envolvendo diferentes níveis de ploidia. Corroborando com esses resultados, progênie de cruzamentos de citrus $4n \times 2n$, também foram observadas plantas com conteúdo de DNA celular variando de diploides a pentaploides (ALEZA

et al., 2012). A regeneração a partir de cultura de células, com tratamentos envolvendo genótipos diploides de *L. perenne* e armazenamento a frio, demonstrou que de 18 plantas albinas regeneradas, quatro eram quimeras, com conteúdo de DNA molecular variando de triploide a pentaploides (CREEMERS-MOLENAAR et al., 1992). Cabe ressaltar que baixas temperaturas podem atuar como inibidores da divisão celular, apresentando efeito similar aos antimitóticos (PEREIRA et al., 2017).

A progênie do cruzamento DRR♂ x TSC♀ apresentava problemas de sobrevivência entre a fase de plântula e seis folhas. Desta forma, o estudo de Bustamante et al. (2015), que avaliou a ploidia na progênie de cruzamentos de azevém diploides x tetraploides, no estágio de plantas adultas, não detectaram plantas pentaploides. Provavelmente essas plantas morrem, logo após a germinação devido a dificuldade de regulação genica, perda de genes duplicados, diversificação funcional e subfuncionalidade devido a alteração no nível de ploidia (ADAMS; WENDEL, 2005).

5.4 Conclusões

A progênie DRR♀ x TSC♂ apresentou problemas de germinação, sendo detectada apenas uma planta triploide das 22 plantas avaliadas. Já a progênie DRR♂ x TSC♀, não apresentou problemas de germinação, porém 46% das plantas morrem logo após a fase de plântula, sendo identificadas plântulas triploides (10%) e pentaploides (25%) nesse cruzamento.

Não foram identificadas plantas resistentes ao glyphosate na progênie DRR♂ x TSC♀, já na progênie DRR♀ x TSC♂, apresentou redução de 47% de plantas resistentes ao glyphosate, em comparação a progênie homozigota (DRR♂ x DRR♀) resistente ao glyphosate. Em vista disso, a semeadura de azevém tetraploide cv. INIA TITAN® apresenta-se como uma alternativa segura para reduzir ou evitar o crescimento da população diploide resistente a glyphosate, em áreas que apresentam esse problema.

6. CONCLUSÕES

Os resultados demonstram que, o azevém tetraploide apresenta ciclo mais longo que o diploide, devido o maior período de afilhamento. O número de afilhos, área foliar, massa seca de raiz e número de sementes foram superiores para o azevém tetraploide e, este apresentou habilidade competitiva maior que o diploide nas diferentes proporções testadas quando ocuparam o mesmo nicho ecológico.

Os herbicidas bentazon, 2,4-D, saflufenacil e carfentrazone-ethyl foram seletivos ao azevém tetraploide independente da dose empregada. O glyphosate, o diuron + paraquat, o clethodim e o haloxyfop apresentam controle satisfatório, de azevém tetraploide. O glufosinate apresentou controle insatisfatório nos estádios de afilhamento e alongamento, no entanto adequado quanto pulverizado no estágio de florescimento das plantas de azevém.

Sementes de azevém diploide apresentam dormência primária, impedindo a germinação imediata após deposição no solo, enquanto sementes tetraploides não apresentam dormência, permanecendo no banco de sementes em estado quiescente. Ambos os genótipos apresentaram sementes potencialmente emergentes no quarto mês após o enterrio, quando as condições ambientais são favoráveis para o desenvolvimento da espécie.

Independe do genótipo testado e do tempo após o enterrio, quanto maior a profundidade que são enterradas as sementes, maior a longevidade no banco de sementes do solo.

A progênie oriunda do cruzamento diploide resistente ao glyphosate♀ x tetraploide suscetível♂ apresentou problemas de germinação, sendo detectada apenas uma planta triploide das 22 plantas avaliadas. Já a progênie oriunda do cruzamento diploide resistente ao glyphosate♂ x tetraploide suscetível♀, não apresentou problemas de germinação, porém 46% das plantas morreram logo após

a fase de plântula, sendo identificadas plântulas triploides (10%) e pentaploides (25%) nesse cruzamento. Não foram identificadas plantas resistentes ao glyphosate na progênie diploide resistente ao glyphosate♂ x tetraploide suscetível♀, já na progênie diploide resistente ao glyphosate♀ x tetraploide suscetível♂, apresentou redução de 47% de plantas resistentes ao glyphosate, em comparação a progênie homozigota resistente ao glyphosate.

7. REFERÊNCIAS

ADAMS, K.L.; WENDEL, J.F. Polyploidy and genome evolution in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 8, n. 1, p. 135–141, 2005.

AGOSTINETTO, D.; FONTANA, L.C.; VARGAS, L.; MARKUS, C.; OLIVEIRA, E. de. Habilidade competitiva relativa de milhã em convivência com arroz irrigado e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 10, p. 1315-1322, 2013.

AGOSTINETTO, D.; OLIVEIRA, C.; LANGARO, A.C.; NOHATTO, M.A.; MANICA-BERTO, R. Change in physiological features in ryegrass biotypes in competition with soybean due resistance to glyphosate. **Planta Daninha**, v. 34, n. 3, p. 517-526, 2016.

AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofitcons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 05 jan. 2018.

AGUINAGA, A.A.Q.; CARVALHO, P.C. de F.; ANGHINONI, I.; PILAU, P.; AGUINAGA, A.J.A.; GIANLUPPI, G.D.F. Componentes morfológicos e produção de forragem de pastagem de aveia e azevém manejada em diferentes alturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 9, p. 1523-1530, 2008.

AHLOOWALIA, B.S. Colchicine induced polyploids in ryegrass. **Euphytica**, v. 16, n. 1, p. 49-60, 1967.

AHLOOWALIA, B.S., Triploid hybrids between italian and perennial ryegrass. **Euphytica**, v. 24, n. 1, p. 413-419, 1975.

ALEZA, P.; JUÁREZ, J.; HERNÁNDEZ, M.; OLLITRAULT, P.; NAVARRO, L. Implementation of extensive citrus triploid breeding programs based on 4x×2x sexual hybridisations. **Tree Genetics & Genome**, v. 8, n. 1, p. 1293-1306, 2012.

ALVAREZ, R. de C.F.; CRUSCIOL, C.A.C.; NASCENTE, A.S. Análise de crescimento e produtividade de cultivares de arroz de terras altas dos tipos tradicional, intermediário e moderno. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 4, p. 397-406, 2012.

BALBINOT JR, A.A.; FLECK, N.G.; MENEZES, V.G.; AGOSTINETTO, D. Competitividade de cultivares de arroz irrigado com cultivar simuladora de arroz-vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 1, p. 53-59, 2003.

BARROSO, A.A.M.; ALBRECHT, A.J.P.; REIS, F.C.; FILHO R.V. Interação entre herbicidas inibidores da ACCase e diferentes formulações de glyphosate no controle de capim-amargoso. **Planta Daninha**, v. 32, n. 3, p. 619-627, 2014.

BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**, v. 14, n. 1, p. 1–16, 2004.

BARTH NETO, A.; SAVIAN, J.V.; SCHONS, R.M.T.; BONNET, O.J.F.; CANTO, M. W. do.; MORAES, A. de.; LEMAIRE, G.; CARVALHO, P.C. de. F. Italian ryegrass establishment by self-seeding in integrated crop-livestock systems: Effects of 53 grazing management and crop rotation strategies. **European Journal of Agronomy**, v. 53, n. 1, p. 67-73, 2014.

BECK, S.L.; DUNLOP, W.R.; FOSSEY, A. Stomatal length and frequency as a measure of ploidy level in black wattle, *Acacia mearnsii* (de Wild). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 141, n. 1, p. 177-181, 2003.

BIANCHI, M.A.; FLECK, N.G.; LAMEGO, F.P. Proporção entre plantas de soja e plantas competidoras e as relações de interferência mútua. **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p. 1380-1387, 2006.

BLEIHOLDER, H.; KIRFEL, H.; LANGELÜDDEKE, P.; STRAUSS, R. Codificação unificada dos estádios fenológicos de culturas e ervas daninhas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 9, p. 1423-1429, 1991.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 399 p.

BRITS, G.J.; BROWN, N.A.C.; CALITZ, F.J.; VAN STADEN, J. Effects of storage under low temperature, room temperature and in the soil on viability and vigour of *Leucospermum cordifolium* (Proteaceae) seeds. **South African Journal of Botany**, v. 97, n. 1, p. 1–8, 2015.

BUHLER, D.D.; HARTZLER, R.G.; FORCELLA, F. Implications of weed seedbank dynamics to weed management. **Weed Science**, v. 45, n. 3, p. 329-336, 1997.

BUSTAMANTE, F. de O.; ROCHA, L.C.; SANTOS, N. de S.; SILVEIRA, R.A.D.; NUNES, R. de C.; MITTELMANN, A.; TECHIO, V.H. Analysis of nuclear DNA content and chromosome number for screening genotypes and crosses in Annual Ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.). **Australian Journal Crop Science**, v. 9, n. 7, p. 666-670, 2015.

CALLOW, M.N.; MICHELL, P.; BAKER, J.E.; HOUGH, G.M. The effect of defoliation practice in Western Australia on tiller development of annual ryegrass (*Lolium rigidum*) and Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) and its association with forage quality. **Grass and Forage Science**, v. 55, n. 1, p. 232-241, 2000.

CARVALHO, S.J.P. de.; NICOLAI, M.; FERREIRA, R.R.; FIGUEIRA, A.V. de O.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Herbicide selectivity by differential metabolism: considerations for reducing crop damages. **Scientia Agricola**, v. 66, n. 1, p. 136-142, 2009.

CAUDURO, G.F.; CARVALHO, P.C. de F.; BARBOSA, C.M.P.; LUNARDI, R.; NABINGER, C.; SANTOS, D.T. dos; VELLEDA, G.L. Fluxo de biomassa aérea em azevém anual manejado sob duas intensidades e dois métodos de pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 2, p. 282-290, 2007.

CHAUHAN, B.S.; GILL, G.; PRESTON, C. Influence of environmental factors on seed germination and seedling emergence of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). **Weed Science**, v. 54, n. 6, p. 1004-1012, 2006.

CHEE-SANFORD, J.C.; WILLIAMS, M.M.; DAVIS, A.S.; SIMS, G.K. Do microorganisms influence seed-bank dynamics? **Weed Science**, v. 54, n. 3, p. 575-587, 2006.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R. Principais aspectos da resistência de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 21, n. 3, p. 507-515, 2003.

CLARO, D.A.M.; OSAKI, F. Produção de matéria seca de diferentes espécies forrageiras de inverno, em áreas degradadas. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 3, n. 1, p. 27-33, 2005.

CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA Jr., R.S. de.; INOUE, M.H.; ARANTES, J.G.Z. de.; CAVALIERI, S.D. Sistemas de dessecação antecedendo a semeadura direta de milho e controle de plantas daninhas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p. 971-976, 2009.

CONTERATO, I.F.; DAVID, D.B.; TRINDADE, J.K. da.; MALDANER, J.; BREMM, C. Comportamento agrônômico de azevém anual (*Lolium multiflorum* L.) no Estado do Rio Grande do Sul. **Boletim de Indústria Animal**, v. 73, n. 3, p. 198-205, 2016.

CÔRREA, M. da C.; CAMPOS, M.B.S. de; MONQUERO, P.A. Impacto de herbicidas utilizados em cana-de açúcar sobre *Cotesia flavipes*. **Pesticidas: revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, v. 24, n.1, p. 53-60, 2014.

COUSENS, R. Aspects of the design and interpretation of competition (interference) experiments. **Weed Technology**, v. 5, n. 1, p. 664-673, 1991.

CREEMERS-MOLENAAR, J.; LOEFFEN, J.P.M.; VAN ROSSUM, M.; COLIJN-HOOYMANS, C.M. The effect of genotype, cold storage and ploidy level on the morphogenic response of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) suspension cultures. **Plant Science**, v. 83, n. 1, p. 87-94, 1992.

CRUZ-HIPOLITO, H.; OSUNA, M.D.; DOMINGUEZ-VALENZUELA, J.A.; ESPINOZA, N.; DE PRADO, R. Mechanism of Resistance to ACCase-Inhibiting Herbicides in Wild Oat (*Avena fatua*) from Latin America. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 1, p. 7261-7267, 2011.

CUNHA, R.P.; PEDROSO, C.E. da S.; MITTELMANN, A.; OLIVEIRA, R.C. de.; BOHN, A.; SILVA, J.D.G. da.; MAIA, M. de S. Relationship between the morphogenesis of italian ryegrass cv. 'BRS Ponteio' with forage and seed production. **Ciencia Rural**, v. 46, n. 1, p. 53-59, 2016.

DALAZEN, G.; KRUSE, N.D.; MACHADO, S.L. DE O. Herbicidas de uso potencial no controle de buva e sua seletividade sobre aveia e azevém. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 4, p. 792-799, 2015.

DAVIS, A.S.; SCHUTTE, B.J.; IANNUZZI, J.; RENNER, K.A. Chemical and physical defense of weed seeds in relation to soil seedbank persistence. **Weed Science**, v. 56, n. 5, p. 676-684, 2008.

DERU, J.; SCHILDER, H.; SCHOOT, J.R. van der; EEKEREN, N. van. Genetic differences in root mass of *Lolium perenne* varieties under field conditions. **Euphytica**, n. 199, p. 223-232, 2014.

DIMITROVA, T.; KATOVA, A. Selectivity of some herbicides to perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), grown for seed production. **Pesticides and Phytomedicine**, v. 26, n. 2, p. 129-134, 2011.

DORS, C.A.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; SANCHOTENE, D.M.; DIAS, A.C.R.; MANFRON, P.A.; DORNELLES, S.H.B. Suscetibilidade de genótipos de *Lolium multiflorum* ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 28, n. 2, p. 401-410, 2010.

DOTRAY, P.A.; DITOMASO, J.M.; CRONWALD, J.W.; WYSE, D.L.; KOCHIAN, L.V. Effects of acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors on root cell transmembrane electric potentials in graminicide-tolerant and susceptible corn (*Zea mays* L.). **Plant Physiology**, v. 103, n. 1, p. 919-924, 1993.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Brasília, 2013. 353p.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. **Indicações técnicas para a cultura da soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, safras 2014/2015 e 2015/2016**. Documento 382. Pelotas, 2014. 124p.

FANG, Y.; LU, H.; CHEN, S.; ZHU, K.; SONG, H.; QIAN, H. Leaf proteome provides insights into the molecular mechanisms of bentazon detoxification in rice. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 125, n. 1, p. 45-52, 2015.

FEARON, C.H.; HAVWARD, M.D.; LAWRENCE, M.J. Self-incompatibility in ryegrass: genetic control, linkage and seed-set in diploid *Lolium multiflorum* Lam. **Heredity**, v. 50, n. 1, p. 35-45, 1983.

FENNER, M.; THOMPSON, K. **The Ecology of Seeds**. Cambridge: Cambridge University Press, 2005. 250 p.

FERREIRA, E.A.; CONCENÇO, G.; SILVA, A.A.; REIS, M.R.; VARGAS, L.; VIANA, R.G.; GUIMARÃES, A.A.; GALON, L. Potencial competitivo de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*). **Planta Daninha**, v. 26, n. 2, p. 261-269, 2008.

FLECK, N.G.; BIANCHI, M.A.; RIZZARDI, M.A.; AGOSTINETTO, D. Interferência de *Raphanus sativus* sobre cultivares de soja durante a fase vegetativa de desenvolvimento da cultura. **Planta Daninha**, v. 24, n. 3, p. 425-434, 2006.

FONTANELI, R.S.; SANTOS, H.P. dos.; FONTANELI, R.S. Morfologia de gramíneas forrageiras. In: **Forrageiras para Integração Lavoura-Pecuária-Floresta na Região Sul-Brasileira**. Brasília: Embrapa, 2012. 544 p.

FRAGA D.S.; AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L.; NOHATTO, M.A.; THÜRMER, L.; HOLZ, M.T. Adaptive value of ryegrass biotypes with low-level resistance and susceptible to the herbicide fluazifop and competitive ability with the wheat culture. **Planta Daninha**, v. 3, n. 4, p. 875-885, 2012.

GALLAGHER, R.S.; GRANGER, K.L.; SNYDER, A.M.; PITTMANN, D.; FUERST, P.E. Implications of environmental stress during seed development on reproductive and seed bank persistence traits in wild oat (*Avena fatua* L.) **Agronomy**, v. 3, n. 1, p. 537-549, 2013.

GALON, L.; FERREIRA, F.A.; FERREIRA, E.A.; SILVA, A.A.; CONCENÇO, G.; SILVA, A.F.; REIS, M.R.; ASPIAZÚ, I.; FIALHO, C.M.T.; BARBOSA, M.H.P.; TIRONI, S.P. Tolerância de novos genótipos de cana-de-açúcar a herbicidas. **Planta Daninha**, v. 28, n. 2, p. 329-338, 2010.

GALON, L.; TIRONI, S.P.; ROCHA, P.R.R.; CONCENÇO, G.; SILVA, A.F.; VARGAS, L.; SILVA, A.A.; FERREIRA, E.A.; MINELLA, E.; SOARES, E.R.; FERREIRA, F.A. Habilidade competitiva de cultivares de cevada convivendo com azevém. **Planta Daninha**, v. 29, n. 4, p. 771-781, 2011.

GARDARIN, A.; COLBACH, N.; How much of seed dormancy in weeds can be related to seed traits? **Weed Research**, v. 55, n. 1, p. 14-25, 2014.

GILLILAND, T.J.; HENNESSY, D.; GRIFFITH, V. Studies into the dynamics of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) seed mixtures. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v. 50, n.1, p. 99-112, 2011.

GILLILAND, T.J.; JOHNSTON, J.; CONNOLLY, C. A review of forage grass and clover seed use in Northern Ireland, UK between 1980 and 2004. **Grass Forage Science**, v. 62, n. 1, p. 239-254, 2007.

GOGGIN, D.E.; POWLES, S.B. Fluridone: a combination germination stimulant and herbicide for problem fields? **Pest Management Science**, v. 70, n. 1, p. 1418-1824, 2014.

GOGGIN, D.E.; STEADMAN, K.J.; POWLES, S.B. Green and blue light photoreceptors are involved in maintenance of dormancy in imbibed annual ryegrass (*Lolium rigidum*) seeds. **New Phytologist**, v. 180, n. 1, p. 81-89, 2008.

GOLDBLATT, P. Polyploidy in angiosperms: monocotyledons. In : Lewis WH, ed. **Polyploidy: biological relevance**. New York: Plenum Press, 1980. p. 219-240.

GONÇALVES, J.O.N. Nitrogênio e produção de matéria seca do azevém. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 47-51, 1979.

GRIFFITH, V.; GILLILAND, T.J.; MCEVOY, M.; O'DONOVAN, M. Competitive dynamics in mixtures of perennial ryegrass cultivars during two growing seasons under two cutting managements. **Crop Pasture Science**, v. 67, n. 2, p. 225-235, 2016.

GROSSMANN, K. Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action. **Pest Management Science**, v. 66, n. 1, p. 113-120, 2010.

GUNDEL, P.E.; MARTÍNEZ-GHERSA, M.A., GHERSA, C.M. Dormancy, germination and ageing of *Lolium multiflorum* seeds following contrasting herbicide selection regimes. **European Journal of Agronomy**, v. 28, n. 1, p. 606-613, 2008.

HAN, H.; YU, Q.; CAWTHRAY, G.R.; POWLES, S.B. Enhanced herbicide metabolism induced by 2,4-D in herbicide susceptible *Lolium rigidum* provides protection against diclofop-methyl. **Pest Management Science**, v. 69, n. 1, p. 996-1000, 2013.

HEAP, I. Global perspective of herbicide-resistant weeds. **Pest Management Science**, v. 70, n. 1, p. 1306-1315, 2014.

HEAP, I. International survey of herbicide resistant weeds. Disponível em: <<http://weedsociety.org/>>. Acesso em: 05 jan. 2018.

HOFFMAN, M.L.; BUHLER, D.D. Utilizing *Sorghum* as a functional model of crop-weed competition. I. Establishing a competitive hierarchy. **Weed Science**, v. 50, n. 4, p. 466-472, 2002.

HOLT, J.S.; RADOSEVICH, S.R. Differential growth of two common groundsel (*Senecio vulgaris*) biotypes. **Weed Science**, v. 31, n. 1, p. 112-120, 1983.

JASIENIUK, M.; BRÛLÉ-BABEL, A.L.; MORRISON, I.N. The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. **Weed Science**, v. 44, n. 1, p. 176-193, 1996.

KAUNDUN, S.S.; BAILLY, G.C.; DALE, R.P.; HUTCHINGS, S.J.; MCINDOE, E.A. A novel W1999S mutation and non-target site resistance impact on Acetyl-CoA carboxylase inhibiting herbicides to varying degrees in a UK *Lolium multiflorum* population. **Plos One**, v. 8, n. 2, p. 1-11, 2013.

KUKORELLI, G.; REISINGER, P.; PINKE, G. ACCase inhibitor herbicides - selectivity, weed resistance and fitness cost: a review. **International Journal of Pest Management**, v. 59, n. 3, p. 165-173, 2013.

LUTMAN, P.J.W.; CUSSANS, G.W.; WRIGHT, K.J.; WILSON, B.J.; WRIGHT, G.M.; LAWSON, H.M. The persistence of seeds of 16 weed species over six years in two arable fields. **Weed Research**, v. 42, n. 1, p. 231-241, 2002.

LYON, D.J.; HUGGINS, D.R.; SPRING, J.F. Windrow burning eliminates italian ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*) seed viability. **Weed Technology**, v. 30, n. 1, p. 279-283, 2016.

MADLUNG, A. Polyploidy and its effect on evolutionary success: old questions revisited with new tools. **Heredity**, v. 110, n. 1, p. 99-104, 2013.

MAGALHÃES, A.C.N. Análise quantitativa do crescimento. In: Ferri, M.G. (Coord.). **Fisiologia vegetal**. São Paulo: EPU/EDUSP, 1979. p. 331-350.

MAIA, F.C.; MAIA, M. de S.; BEKKER, R.M.; BERTON, R.P.; CAETANO, L.S. *Lolium multiflorum* seed in the soil: II. Longevity under natural conditions. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p. 123-128, 2009.

MAIN, C.L.; STECKEL, L.E.; HAYESA, R.M.; MUELLER, T.C. Biotic and abiotic factors influence horseweed emergence. **Weed Science**, v. 54, n. 6, p. 1101-1105, 2006.

MANDIĆ, V.; SIMIĆ, A.; VUČKOVIĆ, S.; STANISAVLJEVIĆ, R.; TOMIĆ, Z.; BIJELIĆ, Z.; KRNJAJA, V. Management practices effect on seed features of italian ryegrass following storage period. **Biotechnology Animal Husbandry**, v. 30, n. 1, p. 145-152, 2014.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MARIANI, F.; VARGAS, L.; AGOSTINETTO, D.; SILVA, D.R.O.; FRAGA, D.S.; SILVA, B.M.; Herança da resistência de *Lolium multiflorum* ao iodosulfuronmethyl sodium. **Planta Daninha**, v. 33, n. 2, p. 351-356, 2015.

MARTINS, A.B.N.; RADKE, A.K.; MONTEIRO, M.A.; DIAS, L.W.; TUNES, L.V.M. de.; MENEGHELO, G.E.; DA MOTTA, F.X.; BRUNES, A.P.; COSTA, C.J.; MITTELMANN, A. Methods for breaking seed dormancy of ryegrass during storage periods. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 45, p. 4567-4570, 2016.

MAXWELL, B.D.; MORTIMER, A.M. Selection for herbicide resistance. In: **Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1994. p. 1-25.

MCSTEEN, P. Auxin and Monocot Development. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, n. 1, p. 1-17, 2010.

- MEDINA, D.M.; PRADO, O.T.; MENDES, A.J.T.; ROESSING, C. A poliploidia artificial na obtenção de melancia sem sementes. **Bragantia**, v. 17, n. 5, p. 81-103, 1958.
- MOHSENI-MOGHADAM, M.; SCHROEDER, J.; ASHIGH, J. Mechanism of resistance and inheritance in glyphosate resistance palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) populations from New Mexico, USA. **Weed Science**, v. 61, n. 4, p. 517-525, 2013.
- MORGAN, E.R.; HOFMANN B.L.; GRANT, J.E. Production of tetraploid *Gentiana triflora* var. japonica 'Royal Blue' plants. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 3, n. 1, p. 65-68, 2003.
- MÜLLER, L.; MANFRON, P.A.; MEDEIROS, S.L.P.; STRECK, N.A.; MITTELMAN, A.; NETO, D.D.; BANDEIRA, A.H.; MORAIS, K.P. Temperatura base inferior e estacionalidade de produção de genótipos diploides e tetraploides de azevém. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1343-1348, 2009.
- NANDULA, V.K.; POSTON, D.H.; REDDY, K.N.; KOGER, C.H. Formulation and adjuvant effects on uptake and translocation of clethodim in bermudagrass (*Cynodon dactylon*). **Weed Science**, v. 55, n. 1, p. 6-11, 2007.
- NARWAL, S.; SINDEL, B.M.; JESSOP, R.S. Dormancy and longevity of annual ryegrass (*Lolium rigidum*) as affected by soil type, depth, rainfall, and duration of burial. **Plant Soil**, v. 310, n. 1, p. 225-234, 2008.
- OLIVEIRA, L.V.; FERREIRA, O.G.L.; PEDROSO, C.E. da S.; COSTA, O.A.D.; SELL, C.M.; SILVEIRA, F.A. Morfogênese del raigrás (*Lolium multiflorum* Lam.) diploide y tetraploide. **Zootecnia Tropical**, v. 32, n. 1, p. 45-51, 2014.
- OMIDBAIGIA, R.; MIRZAEAA, M.; HASSANIB, M.E.; MOGHADAMC, M.S. Induction and identification of polyploidy in basil (*Ocimum basilicum* L.) medicinal plant by colchicine treatment. **International Journal of Plant Production**, v. 4, n. 2, p. 87-98, 2010.
- PEREIRA, R.C.; DAVIDE, L.C.; TECHIO, V.H.; TIMBÓ, A.L.O. Duplicação cromossômica de gramíneas forrageiras: uma alternativa para programas de melhoramento genético. **Ciência Rural**, v. 42, n. 7, p. 1278-1285, 2012.
- PEREIRA, R.C.; SANTOS, N. de S.; BUSTAMANTE, F. de O.; MITTELMANN, A.; TECHIO, V.H. Stability in chromosome number and DNA content in synthetic tetraploids of *Lolium multiflorum* after two generations of selection. **Ciência Rural**, v. 47, n. 2, p. 1-5, 2017.
- POLOK, K. **Molecular evolution of the genus *Lolium* sp.** Olsztyn: Studio Poligrafii Komputerowej, 2007. 320 p.

- PONTES, L. da S.; NABINGER, C.; CARVALHO, P.C. de F.; TRINDADE, J.K. da; MONTARDO, D.P.; SANTOS, R.J. dos. Variáveis morfogênicas e estruturais de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) manejado em diferentes alturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 4, p. 814-820, 2003.
- PRESTON, C.; WAKELIN, A.M.; DOLMAN, F.C.; BOSTAMAM, Y.; BOUTSALIS, P. A decade of glyphosate-resistant *Lolium* around the world: mechanisms, genes, fitness, and agronomic management. **Weed Science**, v. 57, n. 1, p. 435-441, 2009.
- RADOSEVICH, S.R.; HOLT, J.S.; GHERSA, C.M. **Ecology of weeds and invasive plants: relationship to agriculture and natural resource management**. New Jersey: Wiley-Interscience, 2007. 400 p.
- RADOSEVICH, S.R. Methods to study interactions among crops and weeds. **Weed Technology**, v. 1, n. 1, p. 190-198, 1987.
- RAMAKRISHNAN, M.N. Developing tetraploid perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) populations. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 47, n. 1, p. 45-49, 2004.
- RIGOLI, R.P.; AGOSTINETTO, D.; SCHAEGLER, C.E.; DAL MAGRO, T.; TIRONI, S. Habilidade competitiva relativa do trigo (*Triticum aestivum*) em convivência com azevém (*Lolium multiflorum*) ou nabo (*Raphanus raphanistrum*). **Planta Daninha**, v. 26, n. 1, p. 93-100, 2008.
- ROCHA, M.G.; QUADROS, F.L.F. de; GLIENKE, C.L.; CONFORTIN, A.C.C.; COSTA, V.G. da; ROSSI, G.E. Avaliação de espécies forrageiras de inverno na Depressão Central do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 1990-1999, 2007.
- RODRIGUEZ, A.M.; JACOBO, E.J.; DEREGIBUS V. A. Germination behaviour of Italian ryegrass in flooding pampa rangelands. **Seed Science Research**, v. 8, n. 4, p. 521-528, 1998.
- ROMAN, E.S.; VARGAS, L.; RIZZARDI, M.A.; MATTEI, R.W. Resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 301-306, 2004.
- ROUSH, M.L.; RADOSEVICH, S.R.; WAGNER, R.G.; MAXWELL, B.D.; PETERSEN, T.D. A comparison of methods for measuring effects of density and proportion in plant competition experiments. **Weed Science**, v. 37, n. 2, p. 268-275, 1989.
- RUCHEL, Q.; VARGAS, L.; AGOSTINETTO, D.; FERNANDO, J.A.; LÜDTKE, R.; BOBROWSKI, V.L. Caracterização morfoanatômica, contagem cromossômica e viabilidade polínica de biótipos de azevém suscetível e resistentes ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 33, n. 3, p. 567-578, 2015.
- SBCPD - Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina: 1995. 42 p.

SCHNEIDER, T.; VARGAS, L.; AGOSTINETTO, D. Alternative control of ryegrass biotypes resistant to clethodim. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 14, n. 3, p. 243-247, 2015.

SIKKEMA, P.H.; SHROPSHIRE, C.; SOLTANI, N. Tolerance of spring barley (*Hordeum vulgare* L.), oats (*Avena sativa* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) to saflufenacil. **Crop Protection**, v. 27, n. 12, p. 1495-1497, 2008.

STEADMAN, K.J.; BIGNELL, G.P.; MICHAEL, P.J. Stimulating dormancy release and emergence of annual ryegrass (*Lolium rigidum*) seeds using short-term hydrated storage in darkness. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 55, n. 1, p. 787-795, 2004.

STELLIN, U. Studies of the intraspecific competition and performance of chance-hybrids in *Lolium multiflorum* Lam. **Plant Breeding**, v. 114, n. 1, p. 61-65, 1995.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; ANGHINONI, I.; BISSANI, C.A.; CAMARGO, F.A.O.; WIETHOLTER, S. (Ed.). **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2004. 401p.

TIMBÓ, A.L. de O.; COSTA, S.P.N. da.; PEREIRA, R.C.; NUNES, J.D.; PINTO, J.E.B.P.; SOBRINHO, F. de S.; DAVIDE, L.C. Obtaining tetraploid plants of ruzigrass (*Brachiaria ruziziensis*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 43, n. 3, p. 127-131, 2014.

TIRONI, S.P.; GALON, L.; SILVA, A.F. da.; FIALHO, C.M.T.; ROCHA, P.R.R.; FARIA, A.T.; ASPIAZÚ, I.; FORTE C.T.; SILVA, A.A. DA; RADÜNZ, A.L. Época de emergência de azevém e nabo sobre a habilidade competitiva da cultura da cevada. **Ciência Rural**, v. 44, n. 9, p. 1527-1533, 2014.

TONETTO C.J.; MÜLLER, L.; MEDEIROS, S.L.P.; MANFRON, P.A.; BANDEIRA A.H.; MORAIS, K.P.; LEAL L.T.; MILTTEMANN, A.; NETO, D.D. Produção e composição bromatológica de genótipos diploides e tetraploides de azevém. **Zootecnia Tropical**, v. 29, n. 2, p. 169-178, 2011.

URCHEI, M.A.; RODRIGUES, J.D.; STONE, L.F. Análise de crescimento de duas cultivares de feijoeiro sob irrigação, em plantio direto e preparo convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 3, p. 497-506, 2000.

VAN ZANTEN, M.; LIU, Y.; SOPPE, W.J.J. Epigenetic Signalling During the Life of Seeds. In: GRAFI, G.; OHAD, N. (ED). **Epigenetic Memory and Control in Plants**, New York: Springer Heidelberg, 2013. p. 127-153.

VARGAS, C.R.C.J. de.; OLIVEIRA, A.C. de.; CARVALHO, F.I.F. de.; ZIMMER, P.D.; KOPP, M.M.; FREITAS, F.A. de.; BERNARDI, É.C. Dissimilaridade genética entre populações de azevém anual do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 12, n. 2, p. 133-138, 2006.

VARGAS, L.; FRAGA, D.S.; AGOSTINETTO, D.; MARIANI, F.; DUARTE, T.V.; SILVA, B.M. Dose-response curves of *Lolium multiflorum* biotypes resistant and susceptible to clethodim. **Planta Daninha**, v. 31, n. 4, p. 887-892, 2013.

VARGAS, L.; ROMAN, E.S.; RIZZARDI, M.A.; SILVA, V.C. Alteração das características biológicas dos biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) ocasionada pela resistência ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.23, n.1, p.153-160, 2005.

VARGAS, L.; ROMAN, E.S.; RIZZARDI, M.A.; SILVA, V.C. Identificação de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) resistentes ao herbicida glyphosate em pomares de maçã. **Planta Daninha**, v. 22, n. 4, p. 617-622, 2004.

VARGAS, L.; MORAES, R.M.A.; BERTO, C.M. Herança da resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao glyphosate. **Planta daninha**, v. 25, n. 3, p. 567-571, 2007.

WANG, Z.Y.; GE, Y.; SCOTT, M.; SPANGENBERG, G. Viability and longevity of pollen from transgenic and nontransgenic tall fescue (*Festuca arundinacea*) (poaceae) plants. **American Journal of Botany**, v. 91, n. 4, p. 523–530, 2004.

WENDEL, J.F.; JACKSON, S.A. MEYERS, B.C.; WING, R.A. Evolution of plant genome architecture. **Genome Biology**, v. 17, n. 1, p. 1-37, 2016.

WITTMANN, M.T.S.; DALL'AGNOL, M. Indução de poliploidia no melhoramento de plantas. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 9, n. 2, p. 155-164, 2003.

YAMASHITA, O.M.; GUIMARÃES, S.C. Germinação das sementes de *Conyza canadensis* e *Conyza bonariensis* em função da disponibilidade hídrica no substrato. **Planta Daninha**, v. 28, n. 2, p. 309-317, 2010.

YU, Q.; CAIRNS, A.; POWLES, S. Glyphosate, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance evolved in a *Lolium rigidum* biotype. **Planta**, v. 225, n. 1, p. 499-513, 2007.

ZHOU, Y.; KANG, L.; LIAO, S.; PAN, Q.; GE, X.; LI, Z. Transcriptomic analysis reveals differential gene expressions for cell growth and functional secondary metabolites in induced autotetraploid of chinese woad (*Isatis indigotica* Fort.). **Plos One**, v. 10, n. 3, p. 1-19, 2015.

VITA

Maicon Fernando Schmitz é filho de Celso Schmitz e Odênia Salete Schmitz. Nasceu em 22 de julho de 1991, no Município de Sarandi, Rio Grande do Sul. Concluiu no ano de 2005, o ensino fundamental na Escola Estadual de Ensino Médio Antônio Mathias Anschau, no município de Nova Boa Vista-RS. Em 2006, ingressou no curso de Técnico em Agropecuária na Escola Estadual Técnica Celeste Gobbato de Palmeira das Missões, onde graduou como Técnico em Agropecuária em 2008. Por essa instituição, teve a oportunidade de realizar o estágio curricular supervisionado durante o ano de 2008 no Grupo Fazenda Nova (GFN), em Primavera do Leste-MT, adquirindo experiência no manejo de culturas tropicais. No ano de 2011, ingressou no curso de Agronomia na Universidade Federal da Fronteira Sul-Campus Erechim, onde colou grau no ano de 2016. No período de 2011 a 2015, desenvolveu atividades de monitoria e pesquisa, nesta instituição. Foi monitor de iniciação à docência na área de botânica, realizou atividades de pesquisa com estudos voltados ao impacto dos agrotóxicos nas comunidades camponesas de Erechim, Barão do Cotegipe e Aratiba-RS, respostas antioxidantes não enzimáticas de *Baccharis trimera* exposta a cloreto de sódio, bem como atividades de pesquisa no grupo de Manejo Sustentável dos Sistemas Agrícolas (MASSA). Realizou seu estágio final da graduação no setor de plantas daninhas da Embrapa-Trigo, em Passo Fundo-RS, adquirindo experiência no manejo de plantas daninhas. Em 2016, iniciou o curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, em Capão do Leão/RS.